

**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 лечения 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 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:

03.02.02 Вирусология (медицинские и биологические науки);  
03.02.03 Микробиология (медицинские и биологические науки);  
14.02.02 Эпидемиология (медицинские и биологические науки);  
14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология (медицинские и биологические науки)

**3**

**МАЙ – ИЮНЬ**

**ТОМ 97  
2020**

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: 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.

Статьи иностранных авторов,  
а также отдельно рекомендован-  
ные Редакционной коллегией  
русскоязычные статьи публикуются  
на русском и английском языках  
под единым DOI.

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

Russian Science Citation Index  
(RSCI), интегрированная  
с платформой Web of Science,  
EBSCO Publishing  
(на платформе EBSCOhost), ROAD.

#### ПОДПИСКА:

по каталогу «Газеты и Журналы»:  
71420

по каталогу «Пресса по подписке»:  
E71436

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

<https://www.microbiol.elpub.ru;>  
<https://www.elibrary.ru;>  
<https://www.cyberleninka.ru;>  
<https://www.rucont.ru;>  
[https://www.ebsco.com.](https://www.ebsco.com)

#### ИЗДАТЕЛЬ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора

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

#### РЕДАКЦИЯ:

105064 г. Москва,  
Малый Казенный пер., д. 5А.  
Тел.: +7(925)011-87-79.  
E-mail: [jmei@crie.ru](mailto:jmei@crie.ru).

*Начальник редакционно-  
издательского отдела:*

Зокина Ольга Владимировна

*Заведующая редакцией:*

Устинкова Ольга Владимировна.

Редакция не несет ответственности  
за содержание рекламных  
материалов.

К публикации принимаются только  
статьи, подготовленные в соответ-  
ствии с правилами для авторов  
(см. [www.microbiol.elpub.ru](http://www.microbiol.elpub.ru)).

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

Подписано в печать 18.06.2020.

Формат 60×90<sup>1/8</sup>.

Тираж 280 экз. Усл.-печ. л. 6,5.

Отпечатано в типографии

«Буки Веди». [www.bukivedi.com](http://www.bukivedi.com).

E-mail: [info@bukivedi.com](mailto:info@bukivedi.com).

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии  
Роспотребнадзора, 2020

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

**Зверев В.В.**, д.б.н., проф., акад. РАН, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

## Заместитель главного редактора

**Семенов Т.А.**, д.м.н., проф., руководитель отдела эпидемиологии ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

## Ответственный секретарь

**Платонов А.Е.**, д.м.н., проф., зав. лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Акимкин В.Г.**, д.м.н., проф., акад. РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Брико Н.И.**, д.м.н., проф., акад. РАН, директор Института общественного здоровья, зав. кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Брусина Е.Б.**, д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии, Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово, Россия

**Бухарин О.В.**, д.м.н., проф., акад. РАН, главный научный сотрудник, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

**Гинцбург А.Л.**, д.б.н., проф., акад. РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Жирнов О.П.**, д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусного патогенеза Института вирусологии им. Д.И. Иванова, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Караулов А.В.**, д.м.н., проф., акад. РАН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Кутырев В.В.**, д.м.н., проф., акад. РАН, директор, Российский научно-исследовательский институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

**Лобзин Ю.В.**, д.м.н., проф., акад. РАН, директор, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

**Лукашев А.Н.**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Максютов Р.А.**, д.б.н., генеральный директор, ГНЦ вирусологии и биотехнологии (Вектор) Роспотребнадзора, Новосибирск, Россия

**Малеев В.В.**, д.м.н., проф., акад. РАН, советник директора, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Михайлов М.И.**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; проф. кафедры эпидемиологии Белгородского государственного университета, Белгород, Россия

**Онищенко Г.Г.**, д.м.н., проф., акад. РАН, зав. кафедрой экологии человека и гигиены окружающей среды, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Покровский В.И.**, д.м.н., проф., акад. РАН, советник директора ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

**Свитич О.А.**, д.м.н., чл.-корр. РАН, директор, НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

**Сергиев В.П.**, д.м.н., проф., акад. РАН, почетный директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

**Тартаковский И.С.**, д.б.н., проф., зав. лабораторией легионеллеза, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Тотоян А.А.**, д.м.н., проф., акад. РАН, директор, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

**Урываев Л.В.**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, заместитель директора Института вирусологии им. Д.И. Иванова, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

**Филатов Н.Н.**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, заместитель директора, НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

**Черкасов С.В.**, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, врио директора, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

**Шаркова В.А.**, д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

## Иностранные члены редакционной коллегии

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

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

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

**Werner Lubitz**, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder, 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 K. Mamadov**, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

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 journal accepts for publication Russian and foreign research papers, lectures, methodological materials, legislative documents in the field of preserving the epidemiological well-being of the population.

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

03.02.02 Virology (medical and biological sciences);  
03.02.03 Microbiology (medical and biological sciences);  
14.02.02 Epidemiology (medical and biological sciences);  
14.03.09 Clinical immunology, Allergology (medical and sciences)

**3**

**MAY – JUNE**

---

**VOLUME 97**

**2020**

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: 10.36233**

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

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

The CrossMark service is used.

Articles by foreign authors, as well as Russian-language articles specially recommended by the Editorial Board, are published in Russian and English under the same DOI.

**The journal is presented in the following research databases:** Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science; the databases of EBSCO Publishing (on the EBSCOhost platform), ROAD.

**Index for subscription to the printed version of the journal:** catalog "Newspapers and Journals": 71420.  
catalog "Subscription Press": E71436.

**Full texts of issues of the journal are available:**

<https://www.microbiol.elpub.ru/>;  
<https://www.elibrary.ru/>;  
<https://www.cyberleninka.ru/>;  
<https://www.rucont.ru/>;  
<https://www.ebsco.com>.

#### **PUBLISHER:**

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

#### **EDITORIAL OFFICE:**

5A, Maly Kazenny per., Moscow, 105064, Russia.  
Tel.: +7(925)011-87-79.  
E-mail: [jme@crie.ru](mailto:jme@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 ([www.microbiol.elpub.ru](http://www.microbiol.elpub.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.elpub.ru/jour>).

Signed to the press on June 18, 2020.  
Print format 60×90<sup>1/8</sup>.  
Circulation 250 copies.

Produced at the Buki Vedi Printing House.  
115093, 1, 1<sup>st</sup> Party lane, Moscow, Russian Federation.  
E-mail: [info@bukivedi.com](mailto:info@bukivedi.com).  
[www.bukivedi.com](http://www.bukivedi.com)

© Central Research Institute for Epidemiology, 2020

#### **EDITOR-IN-CHIEF**

**Vitaly V. Zverev**, Dr. Sci. (Biology), RAS Full Member, Professor, Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

#### **Deputy Editor**

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

#### **Executive Secretary**

**Alexander E. Platonov**, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Laboratory of Zoonoses, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

#### **EDITORIAL BOARD**

**Vasily G. Akimkin**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

**Nikolay I. Briko**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Public Health, Head, Department of Epidemiology and Evidence-Based Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Elena B. Brusina**, professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of epidemiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

**Oleg V. Bukharin**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Principal Research Scientist, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis Ural Branch of RAS, Orenburg, Russia

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

**Oleg P. Zhirnov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of viral pathogenesis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology Moscow, Russia

**Alexander V. Karaulov**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

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

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

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

**Rinat A. Maksyutov**, Dr. Sci. (Biology), Director General, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Novosibirsk, Russia

**Victor V. Maleev**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director adviser, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

**Mikhail I. Mikhaylov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Laboratory of viral hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Professor, Department of epidemiology, Belgorod State University, Medical Institute, Belgorod, Russia

**Gennadiy G. Onishchenko**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Human Ecology and Environmental Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Valentin I. Pokrovskiy**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Advisor to Director of Innovation, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

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

**Vladimir P. Sergiev**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director Emeritus, Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

**Valentina A. Sharkova**, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Microbiology and Virology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

**Igor S. Tartakovskiy**, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of legionellosis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

**Arg A. Totolian**, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

**Leonid V. Uryvaev**, Dr. Sci. (Medicine), Professor, RAS Corr. Member, Deputy Director, D.I. Ivanovskiy Virology Institute, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

**Nikolay N. Filatov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Deputy Director for Science, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

**Sergey V. Cherkasov**, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, Orenburg, Russia

#### **Foreign members of the Editorial Board**

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

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

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

**Werner Lubitz**, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder, Biotech Innovation Research Development and 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 K. Mamadov**, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

## СОДЕРЖАНИЕ

### КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В., Каленская А.В., Соловьева И.В., Вершинина М.А., Квасова О.А., Плоскирева А.А., Мамошина М.В., Елькина М.А., Андреева Е.Е., Иваненко А.В., Микашлова О.М.*  
Эпидемиологическое значение определения РНК SARS-CoV-2 среди различных групп населения Москвы и Московской области в период эпидемии COVID-19\* ..... 197

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Мескина Е.Р.*  
Предварительный клинико-эпидемиологический анализ первых 1000 случаев COVID-19 у детей в Московской области\* ..... 202
- Филатов Ф.П., Шаргунов А.В.*  
Тетрануклеотидный профиль герпесвирусных ДНК\* ..... 216
- Игнатъев Г.М., Каа К.В., Оксанич А.С., Антонова Л.П., Самарцева Т.Г., Мефед К.М., Яковлева Д.А., Жиренкина Е.А.*  
Индикация и идентификация вирусов денге и Чикунгунья в комарах рода *Aedes spp.*, отловленных в Центральной Америке\* ..... 227
- Лаурентьева И.Н., Хамитова И.В., Самара J., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Magassouba N.F., Никишов О.Н., Кузин А.А., Семенов А.В.*  
Состояние гуморального иммунитета к парвовирусу В19 у населения отдельных географических регионов\* ..... 233
- Шмыленко В.А., Бондаренко А.П., Троценко О.Е., Туркутюков В.Б., Базыкина Е.А.*  
Характеристика назофарингеального носительства бактериальных патогенов у детей и взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в Хабаровске (2015–2018 гг.) ..... 242
- Строкова О.А., Кремлёва Е.А., Константинова О.Д., Сгибнев А.В.*  
Регуляция микробиологического состояния нижних отделов женского репродуктивного тракта витаминами ..... 251
- Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Рыкова В.А., Соколова Е.П.*  
Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России ..... 258
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Писанов Р.В.*  
Выявление штаммов *Vibrio cholerae* «гаитянской» группы с помощью полимеразной цепной реакции на основе INDEL-типирования ..... 265

### ОБЗОРЫ

- Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н.*  
Молекулярные механизмы персистенции бактерий ..... 271

### РЕЦЕНЗИЯ

- Жирнов О.П.*  
Рецензия на книгу академика РАН Ф.И. Ершова «История вирусологии от Д.И. Ивановского до наших дней» ..... 280

### ЮБИЛЕЙ

- К 95-летию профессора Костюковой Натальи Николаевны: 73 года служения науке ..... 281

### НЕКРОЛОГ

- Памяти Валентины Борисовны Гервазиевой ..... 282

\* Статья опубликована на русском и английском языках.

## CONTENTS

### SHORT COMMUNICATIONS

- Akimkin V.G., Kuzin S.N., Shipulina O.Yu., Yatsyshina S.B., Tivanova E.V., Kalenskaya A.V., Solovieva I.V., Vershinina M.A., Kvasova O.A., Ploskireva A.A., Mamoshina M.V., Elkina M.A., Andreeva E.E., Ivanenko A.V., Mikailova O.M.**  
Epidemiological significance of detection of SARS-CoV-2 RNA among different groups of population of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 outbreak\* ..... 197

### ORIGINAL RESEARCHES

- Meskina E.R.**  
Preliminary clinical and epidemiological analysis of the first 1,000 pediatric COVID-19 cases in Moscow Region\* ..... 202
- Filatov F.P., Shargunov A.V.**  
Tetranucleotide profile of Herpesvirus DNA\* ..... 216
- Ignatyev G.M., Kaa K.V., Oksanich A.S., Antonova L.P., Samartseva T.G., Mefed K.M., Yakovleva D.A., Zhirenkina E.A.**  
Indication and identification of Dengue and Chikungunya viruses in *Aedes spp.* mosquitoes captured in Central America\* ..... 227
- Lavrentieva I.N., Khamitova I.V., Camara J., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Magassouba N.F., Nikishov O.N., Kuzin A.A., Semenov A.V.**  
The status of humoral immunity to parvovirus B19 in population of certain geographical regions\* ..... 233
- Shmylenko V.A., Bondarenko A.P., Trotsenko O.E., Turkutyukov V.B., Bazykina E.A.**  
Characteristics of nasopharyngeal carriage of bacterial pathogens in children and adults suffering from recurrent respiratory infections in Khabarovsk city in 2015–2018 ..... 242
- Stroikova O.A., Kremleva E.A., Konstantinova O.D., Sgibnev A.V.**  
Regulation of the microecological state of the lower parts of the female reproductive tract with vitamins ..... 251
- Selyanskaya N.A., Vodop'yanov S.O., Rykova V.A., Sokolova E.P.**  
Transmissible antibiotic resistance, associated with the SXT element, in cholera vibrios isolated in the territory of Russia ..... 258
- Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Pisanov R.V.**  
Identification of *Vibrio cholerae* strains of the «Haitian» group by PCR based on INDEL-typing ..... 265

### REVIEWS

- Andryukov B.G., Lyapun I.N.**  
Molecular mechanisms of persistence of bacteria ..... 271

### BOOK REVIEW

- Zhirnov O.P.**  
Review of the book by Academician F.I. Ershov  
«History of Virology by D.I. Ivanovsky to the Present Day» ..... 280

### ANNIVERSARY

- To the 95<sup>th</sup> anniversary of Professor Kostyukova Natalia Nikolaevna: 73 years of service to science ..... 281

### OBITUARY

- In memory of Valentina Borisovna Gervazieva ..... 282

---

\* The article is published in Russian and English.

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

© Коллектив авторов, 2020



### Эпидемиологическое значение определения РНК SARS-CoV-2 среди различных групп населения Москвы и Московской области в период эпидемии COVID-19

Акимкин В.Г.<sup>1</sup>, Кузин С.Н.<sup>1✉</sup>, Шипулина О.Ю.<sup>1</sup>, Яцышина С.Б.<sup>1</sup>, Тиванова Е.В.<sup>1</sup>, Каленская А.В.<sup>1</sup>, Соловьева И.В.<sup>1</sup>, Вершинина М.А.<sup>1</sup>, Квасова О.А.<sup>1</sup>, Плоскирева А.А.<sup>1</sup>, Мамошина М.В.<sup>1</sup>, Елькина М.А.<sup>1</sup>, Андреева Е.Е.<sup>2</sup>, Иваненко А.В.<sup>3</sup>, Микаилова О.М.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 197101, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по г. Москве, 129626, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», 129626, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Московской области, 141014, Мытищи, Россия

ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора представляет приоритетные данные широкомасштабного популяционного ПЦР-исследования динамики уровня циркуляции SARS-CoV-2 среди условно здорового населения Москвы и Московской области.

**Ключевые слова:** РНК; SARS-CoV-2; популяционное исследование; условно здоровое население; COVID-19; эпидемический процесс.

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

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

**Для цитирования:** Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В., Каленская А.В., Соловьева И.В., Вершинина М.А., Квасова О.А., Плоскирева А.А., Мамошина М.В., Елькина М.А., Андреева Е.Е., Иваненко А.В., Микаилова О.М. Эпидемиологическое значение определения РНК SARS-CoV-2 среди различных групп населения Москвы и Московской области в период эпидемии COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 197–201.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-1>

Поступила 25.05.2020  
Принята в печать 26.05.2020

### Epidemiological significance of detection of SARS-CoV-2 RNA among different groups of population of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 outbreak

Vasily G. Akimkin<sup>1</sup>, Stanislav N. Kuzin<sup>1✉</sup>, Olga Yu. Shipulina<sup>1</sup>, Svetlana B. Yatsyshina<sup>1</sup>, Elena V. Tivanova<sup>1</sup>, Anna V. Kalenskaya<sup>1</sup>, Irina V. Solovieva<sup>1</sup>, Marina A. Vershinina<sup>1</sup>, Olga A. Kvasova<sup>1</sup>, Antonina A. Ploskireva<sup>1</sup>, Marina V. Mamoshina<sup>1</sup>, Mariya A. Elkina<sup>1</sup>, Elena E. Andreeva<sup>2</sup>, Aleksandr V. Ivanenko<sup>3</sup>, Olga M. Mikailova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 197101, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow, 129626, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, 129626, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow Region, 141014, Mytishchi, Russia

The Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor presents priority data obtained from the large-scale population PCR-based study of the changes in the rates of circulation of SARS-CoV-2 among relatively healthy residents of Moscow and Moscow Region.

**Keywords:** RNA; SARS-CoV-2; population-based study; relatively healthy residents; COVID-19; epidemic process.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Akimkin V.G., Kuzin S.N., Shipulina O.Yu., Yatsyshina S.B., Tivanova E.V., Kalenskaya A.V., Solovieva I.V., Vershinina M.A., Kvasova O.A., Ploskireva A.A., Mamoshina M.V., Elkina M.A., Andreeva E.E., Ivanenko A.V., Mikailova O.M. Epidemiological significance of detection of SARS-CoV-2 RNA among different groups of population of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 outbreak. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 197–201. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-1>

Received 25 May 2020

Accepted 26 May 2020

За период с 06.04.2020 по 24.05.2020 специалистами ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора проведено популяционное исследование, которое позволило оценить уровень циркуляции SARS-CoV-2 среди населения Москвы и Московской области. Всего обследовано 75 940 условно здоровых лиц, не имеющих симптомов респираторных заболеваний. Также с начала подъема заболеваемости COVID-19 в Московском регионе обследованы отдельные категории пациентов ( $n = 83\ 699$ ). Исследования выполняли с помощью разработанной и производимой в ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора тест-системы «Ампли-Сенс® Cov-Bat-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН 2014/1987 от 25.03.2020).

Из обследованной когорты условно здорового населения Московского региона РНК SARS-CoV-2 выявили у 5321 (7,01%) человека (95% ДИ<sup>1</sup> 6,83–7,19%), частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 в Москве составила 7,12% (6,87–7,37%) и в Московской области — 6,87% (6,60–7,14%), что позволяет констатировать отсутствие различий в частоте определения РНК SARS-CoV-2 в этих субъектах России.

Важное значение для оценки эпидемиологической ситуации и определения направления ее эволюции имеет динамика анализируемого показателя (рисунок).

Следует отметить, что значения показателя уровня циркуляции РНК SARS-CoV-2 были весьма переменными, причем в Московской области колебания носили более выраженный характер, чем в Москве. Так, в Московской области обращают на себя внимание 5 пиковых значений: 11.04.2020

(15,2%), 28–29.04.2020 (15,4 и 17,9% соответственно), 03.05.2020 (13,5%) и 07.05.2020 (14,7%).

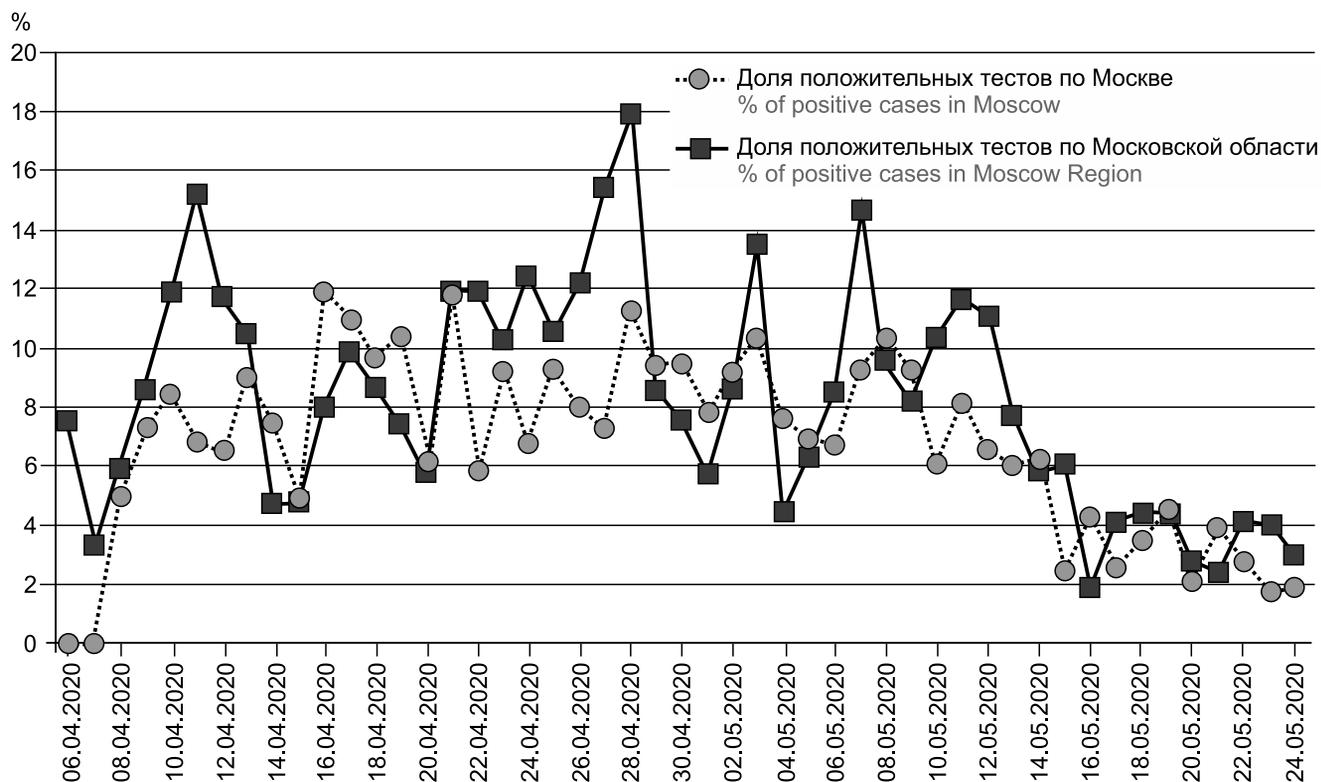
Минимальные значения отмечены на фоне общего снижения частоты детекции РНК SARS-CoV-2 и составили 2,7% (20.05.2020), 2,5% (21.05.2020) и 2,8% (24.05.2020). В Москве пиковые значения были несколько ниже и зафиксированы на уровне 11,9% (16.04.2020), 11,0% (17.04.2020), 11,9% (21.04.2020), 11,2% (28.04.2020) и 10,4% (08.05.2020). Минимумы также пришлись на заключительные дни периода наблюдения — 23–24.05.2020 (1,8 и 1,9% соответственно).

По характеру кривых значений частоты детекции РНК SARS-CoV-2 среди населения нами выделены три временных отрезка (06–28.04.2020, 29.04–12.05.2020 и 13–24.05.2020), для которых были рассчитаны величины тенденций динамики анализируемого показателя. Так, в период 06–28.04.2020 в Москве и Московской области зафиксирован умеренный рост с темпами прироста Троста = +1,3% и Троста = +3,0% в день соответственно. С нашей точки зрения, возрастающее количество потенциальных источников инфекции свидетельствует об интенсификации эпидемического процесса COVID-19 в исследуемых субъектах России.

В середине периода наблюдения (29.04–12.05.2020) в Москве и Московской области выявлены различия в динамике анализируемого показателя. Так, в Москве частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 в популяции стала снижаться с умеренной интенсивностью (Тсниж. = –1,8% в день), тогда как в Московской области продолжился умеренный рост (Троста = +3,3% в день).

Заключительные 10 дней периода наблюдения характеризовались высокими темпами снижения частоты определения РНК SARS-CoV-2, которые в

<sup>1</sup> Здесь и далее в скобках приведен 95% доверительный интервал.



Уровень циркуляции SARS-CoV-2 среди условно здорового населения Москвы и Московской области в период развития эпидемии COVID-19.

The rate of SARS-CoV-2 circulation among relatively healthy residents of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 epidemic outbreak.

Москве и Московской области составили Троста = -5,9% и Тсниж. = -11,1% в день соответственно.

Вместе с тем положительная тенденция развития эпидемического процесса COVID-19, установленная на основании динамики частоты обнаружения SARS-CoV-2 в популяции, не дает представления об общем эпидемиологическом благополучии. Одним из показателей, который, по нашему мнению, количественно характеризует эпидемиологическую ситуацию, является уровень циркуляции SARS-CoV-2 в популяции. Нами проведено сравнение средней частоты обнаружения РНК SARS-CoV-2 у обследованных лиц за 7–9-дневные интервалы с 06.04.2020 по 24.05.2020 (таблица).

Можно констатировать, что в течение всего периода наблюдения в Москве и Московской обла-

сти достигнуто существенное (в 3–4 раза;  $p < 0,001$ ) снижение удельного веса лиц, которые являлись потенциальными источниками инфекции, что, по нашему мнению, может служить предикцией дальнейшего улучшения эпидемиологической ситуации.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности проводимых противоэпидемических мероприятий. Так, принятый в Москве с 25.03.2020 режим самоизоляции начал оказывать значимый эффект, выражающийся в снижении удельного веса лиц, инфицированных SARS-CoV-2, примерно на 6–7-й неделе (рисунок). По нашему мнению, сроки начала влияния режима самоизоляции в Москве и начала снижения частоты обнаружения SARS-CoV-2 могут указывать на продолжительность инкубационного периода COVID-19 более 14 дней, а также на

**Средняя частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 в Москве и Московской области за период 06.04–24.05.2020**

**The mean frequency of detection of SARS-CoV-2 RNA in Moscow and Moscow Region, 6/4/2020–24/5/2020**

Срок исследования Duration of study	Москва / Moscow		Московская область / Moscow Region	
	%	95% ДИ 95% confidence interval	%	95% ДИ 95% confidence interval
06–12.04.2020	7,04	6,13–8,04	11,66	10,09–13,39
28.04–04.05.2020	7,60	6,90–8,35	8,53	7,63–9,50
16–24.05.2020	3,30	2,93–3,70	3,39	3,06–3,75

длительное выделение вируса у реконвалесцентов, что требует тщательного научного анализа [1].

Вместе с тем такое улучшение эпидемиологической ситуации недостаточно для радикальной отмены ограничительных мероприятий, поскольку, как очевидно, еще не сформирован достаточный популяционный иммунитет к РНК SARS-CoV-2. По предварительным данным, на этапе эпидемии, определяемом как стабилизация (по динамике заболеваемости COVID-19) — с 16.05.2020 по 24.05.2020, частота обнаружения специфических антител к SARS-CoV-2 у случайной выборки людей в Московском регионе составляет 12–15%, что полностью коррелирует с полученными нами данными о частоте циркуляции вируса среди населения.

Определение РНК SARS-CoV-2 в различных группах пациентов имело высокую диагностическую значимость. Так, у пациентов с предварительным диагнозом «острая респираторная вирусная инфекция» в 81,65% (81,18–82,11%) случаев была выявлена РНК SARS-CoV-2. Это дает основания считать, что на фоне эпидемии COVID-19 этот этиологический агент является основным для данной нозологической формы. Среди пациентов с диагнозом «пневмония», установленным на основании клинической картины, РНК SARS-CoV-2 обнаружены в 70,92% (70,22–72,61%) случаев. Весьма высокой следует считать частоту обнаружения РНК SARS-CoV-2 у лиц, имевших контакт с заболевшими COVID-19, — 65,78% (65,23–66,33%). Тот факт, что 2/3 контактных лиц оказались инфицированы, свидетельствует о высокой степени вирулентности SARS-CoV-2, что соответствует более поздней модели распространения COVID-19 [2, 3]. Отдельную группу составили пациенты, обследование которых проведено по назначению врача. В период эпидемии частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 составила 77,34% (76,53–78,13%).

Полученные результаты позволяют констатировать, что диагностика SARS-CoV-2 методом ПЦР в условиях развивающейся эпидемии COVID-19 на территории России имеет крайне важное и самостоятельное значение. Во-первых, обследование на наличие РНК SARS-CoV-2 позволяет своевременно выявлять и изолировать потенциально опасных в эпидемиологическом отношении лиц, а также обеспечивать этиологическую дифференциальную диагностику с другими острыми респираторными заболеваниями и гриппом, что имеет принципиально важное значение в качестве меры профилактики распространения SARS-CoV-2. Во-вторых, точное определение этиологии заболевания — необходимое условие для правильного выбора тактики ведения пациента. В-третьих, проведенное динамическое популяционное исследование показало, что получаемые результаты позволяют оценивать стадию развития эпидемического процесса COVID-19 [4].

В нашем случае в первую неделю (06–12.04.2020) частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 среди случайно выбранных здоровых людей составила в Москве 7,04%, в Московской области — 11,66%. Это означало, что 1 из 10–13 человек, которые считают себя здоровыми, инфицирован и является потенциальным источником заражения для других людей. Именно такие носители вируса поддерживали высокую интенсивность эпидемического процесса в Москве и Московской области.

В середине анализируемого периода (28.04–04.05.2020) в Москве частота обнаружения РНК SARS-CoV-2 осталась на прежнем уровне (7,60%), тогда как в Московской области отмечено некоторое ее снижение (8,53%). Принципиально важным является существенное снижение удельного веса инфицированных лиц в последнюю неделю (16–24.05.2020). В Москве и Московской области РНК SARS-CoV-2 выявлена у 3,30 и 3,39% обследуемых лиц соответственно.

Таким образом, частота циркуляции SARS-CoV-2 в популяции — исключительно важный интегративный эпидемиологический показатель, который позволяет объективно оценивать интенсивность эпидемического процесса и эффективность проводимых противоэпидемических мероприятий [5].

Массовый популяционный скрининг на наличие РНК SARS-CoV-2 является важнейшим противоэпидемическим мероприятием, позволяющим получить объективную информацию о развитии эпидемического процесса в режиме реального времени. С учетом его значимости для оценки эпидемиологической ситуации показатель удельного веса инфицированных лиц среди здоровой популяции, свидетельствующий об уровне циркуляции вируса среди населения, очевидно, будет использоваться в системе эпидемиологического надзора в качестве одного из параметров мониторинга [5, 6].

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January–March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
2. Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. Contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
3. Courtemanche C., Garuccio J., Le A., Pinkston J., Yelowitz A. Strong social distancing measures in the United States reduced the COVID-19 growth rate. *Health Aff. (Millwood)*. 2020; 101377hlthaff202000608. DOI: <http://doi.org/10.1377/hlthaff.2020.00608>
4. Omori R., Mizumoto K., Chowell G. Changes in testing rates could mask the novel coronavirus disease (COVID-19) growth rate. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94: 116–8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.021>

5. Signorelli C., Scognamiglio T., Odone A. COVID-19 in Italy: impact of containment measures and prevalence estimates of infection in the general population. *Acta Biomed.* 2020; 91(3-S): 175-9. DOI: <http://doi.org/10.23750/abm.v91i3-S.9511>

6. Shearer F.M., Moss R., McVernon J., Ross J.V., McCaw J.M. Infectious disease pandemic planning and response: Incorporating decision analysis. *PLoS Med.* 2020; 17(1): e1003018. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003018>

#### Информация об авторах:

*Акимкин Василий Геннадиевич* — д.м.н., академик РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

*Кузин Станислав Николаевич* — д.м.н., проф., зав. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>.

E-mail: [drkuzin@list.ru](mailto:drkuzin@list.ru)

*Шипулина Ольга Юрьевна* — к.м.н., рук. подразделения лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-6772>.

*Яцышина Светлана Борисовна* — к.б.н., с.н.с., отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4737-941X>.

*Тиванова Елена Валерьевна* — рук. направления лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1286-2612>.

*Каленская Анна Валентиновна* — зам. рук. направления лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг по клиентскому сервису отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9126-1155>.

*Соловьева Ирина Владимировна* — рук. группы обеспечения качества Клинико-диагностической лаборатории ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

*Вершинина Марина Анатольевна* — ведущий консультант по лабораторной медицине отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8582-5199>.

*Квасова Ольга Андреевна* — врач-эпидемиолог лаборатории инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4545-1804>.

*Плоскирева Антонина Александровна* — д.м.н., зам. директора ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>.

*Мамошина Марина Васильевна* — м.н.с. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1419-7807>

*Елькина Мария Александровна* — м.н.с. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4769-6781>

*Андреева Елена Евгеньевна* — д.м.н., проф., рук. Управления Роспотребнадзора по городу Москве, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6687-7276>

*Иваненко Александр Валентинович* — главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7122-017X>

*Микаилова Ольга Михайловна* — к.м.н., рук. Управления Роспотребнадзора по Московской области, Мытищи, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3842-6368>

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

#### Information about the authors:

*Vasily G. Akimkin* — D. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

*Stanislav N. Kuzin* — D. Sci. (Med.), prof., Head, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>.

E-mail: [drkuzin@list.ru](mailto:drkuzin@list.ru)

*Olga Yu. Shipulina* — PhD (Med.), Head of subdivisions, of laboratory medicine and laboratory services promotion, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-6772>.

*Svetlana B. Yatsyshina* — PhD (Biol.), senior researcher, Head, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4737-941X>.

*Elena V. Tivanova* — Head, area of laboratory medicine and laboratory services promotion, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1286-2612>.

*Anna V. Kalenskaya* — Deputy head, area of laboratory medicine and laboratory services promotion for customer service, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9126-1155>.

*Irina V. Solovieva* — Head, Quality assurance group, Clinical and diagnostic laboratory, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

*Marina A. Verшинina* — leading consultant in laboratory medicine, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8582-5199>.

*Olga A. Kvasova* — epidemiologist, Laboratory of Infections associated with the provision of medical assistance, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4545-1804>.

*Antonina A. Ploskireva* — D. Sci. (Med.), Deputy Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>.

*Marina V. Mamoshina* — junior researcher, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1419-7807>

*Mariya A. Elkina* — junior researcher, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4769-6781>

*Elena E. Andreeva* — D. Sci. (Med.), prof., Head, Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6687-7276>

*Alexandr V. Ivanenko* — chief physician, Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7122-017X>

*Olga M. Mikailova* — PhD (Med.), Head, Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow Region, Mytishchi, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3842-6368>

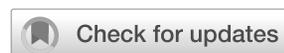
**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

---

## SHORT COMMUNICATIONS

---

© Akimkin V.G., Kuzin S.N., Shipulina O.Yu., Yatsyshina S.B., Tivanova E.V., Kalenskaya A.V., Solovieva I.V., Vershinina M.A., Kvasova O.A., Ploskireva A.A., Mamoshina M.V., Elkina M.A., Andreeva E.E., Ivanenko A.V., Mikailova O.M., 2020



# Epidemiological significance of detection of SARS-CoV-2 RNA among different groups of population of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 outbreak

Vasily G. Akimkin<sup>1</sup>, Stanislav N. Kuzin<sup>1✉</sup>, Olga Yu. Shipulina<sup>1</sup>, Svetlana B. Yatsyshina<sup>1</sup>, Elena V. Tivanova<sup>1</sup>, Anna V. Kalenskaya<sup>1</sup>, Irina V. Solovieva<sup>1</sup>, Marina A. Vershinina<sup>1</sup>, Olga A. Kvasova<sup>1</sup>, Antonina A. Ploskireva<sup>1</sup>, Marina V. Mamoshina<sup>1</sup>, Mariya A. Elkina<sup>1</sup>, Elena E. Andreeva<sup>2</sup>, Aleksandr V. Ivanenko<sup>3</sup>, Olga M. Mikailova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 197101, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow, 129626, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, 129626, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow Region, 141014, Mytishchi, Russia

The Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor presents priority data obtained from the large-scale population PCR-based study of the changes in the rates of circulation of SARS-CoV-2 among relatively healthy residents of Moscow and Moscow Region.

**Keywords:** RNA; SARS-CoV-2; population-based study; relatively healthy residents; COVID-19; epidemic process.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Akimkin V.G., Kuzin S.N., Shipulina O.Yu., Yatsyshina S.B., Tivanova E.V., Kalenskaya A.V., Solovieva I.V., Vershinina M.A., Kvasova O.A., Ploskireva A.A., Mamoshina M.V., Elkina M.A., Andreeva E.E., Ivanenko A.V., Mikailova O.M. Epidemiological significance of detection of SARS-CoV-2 RNA among different groups of population of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 outbreak. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 197–201.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-1>

Received 25 May 2020

Accepted 29 May 2020

# Эпидемиологическое значение определения РНК SARS-CoV-2 среди различных групп населения Москвы и Московской области в период эпидемии COVID-19

Акимкин В.Г.<sup>1</sup>, Кузин С.Н.<sup>1✉</sup>, Шипулина О.Ю.<sup>1</sup>, Яцышина С.Б.<sup>1</sup>, Тиванова Е.В.<sup>1</sup>, Каленская А.В.<sup>1</sup>, Соловьева И.В.<sup>1</sup>, Вершинина М.А.<sup>1</sup>, Квасова О.А.<sup>1</sup>, Плоскирева А.А.<sup>1</sup>, Мамошина М.В.<sup>1</sup>, Елькина М.А.<sup>1</sup>, Андреева Е.Е.<sup>2</sup>, Иваненко А.В.<sup>3</sup>, Микаилова О.М.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, 197101, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по г. Москве, 129626, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», 129626, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Московской области, 141014, Мытищи, Россия

ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора представляет приоритетные данные широкомасштабного популяционного ПЦР-исследования динамики уровня циркуляции SARS-CoV-2 среди условно-здорового населения Москвы и Московской области.

**Ключевые слова:** РНК; SARS-CoV-2; популяционное исследование; условно здоровое население; COVID-19; эпидемический процесс.

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

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

**Для цитирования:** Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Шипулина О.Ю., Яцышина С.Б., Тиванова Е.В., Каленская А.В., Соловьева И.В., Вершинина М.А., Квасова О.А., Плоскирева А.А., Мамошина М.В., Елькина М.А., Андреева Е.Е., Иваненко А.В., Михайлова О.М. Эпидемиологическое значение определения РНК SARS-CoV-2 среди различных групп населения Москвы и Московской области в период эпидемии COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(3): 197–201.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-1>

Поступила 25.05.2020  
Принята в печать 26.05.2020

From 6/4/2020 to 24/5/2020, scientists from the Central Research Institute of Epidemiology conducted a population-based study, which made it possible to estimate the rate of SARS-CoV-2 circulation among residents of Moscow and Moscow Region. The study included a total of 75,940 relatively healthy individuals displaying no symptoms of respiratory diseases. In addition, with an increase in the number of COVID-19 cases in Moscow Region, different categories of patients were examined ( $n = 83,699$ ). The studies were performed by using the AmpliSens<sup>®</sup> Cov-Bat-FL test system (Registration Certificate RZN 2014/1987 of 25/3/2020) designed and manufactured by the Central Research Institute of Epidemiology.

In the examined cohort of relatively healthy residents of Moscow Region, SARS-CoV-2 RNA was detected in 5,321 (7.01%) individuals (95% CI<sup>1</sup> 6.83–7.19%); the detection frequency for SARS-CoV-2 RNA was 7.12% (6.87–7.37%) in Moscow and 6.87% (6.60–7.14%) in Moscow Region, thus demonstrating no difference in the SARS-CoV-2 RNA detection frequency in these constituent territories of Russia.

The dynamics of the analyzed indicator is highly important both for assessment of the epidemiological situation and for identification of its evolution pattern (Figure).

It should be noted that the rates of SARS-CoV-2 RNA detection varied quite considerably; the fluctuations were more noticeable in Moscow Region than in Moscow. For example, in Moscow Region, 5 peak values call for special attention: 11/4/2020 (15.2%), 28/4/2020–29/4/2020 (15.4 and 17.9%, respectively), 3/5/2020 (13.5%) and 7/5/2020 (14.7%).

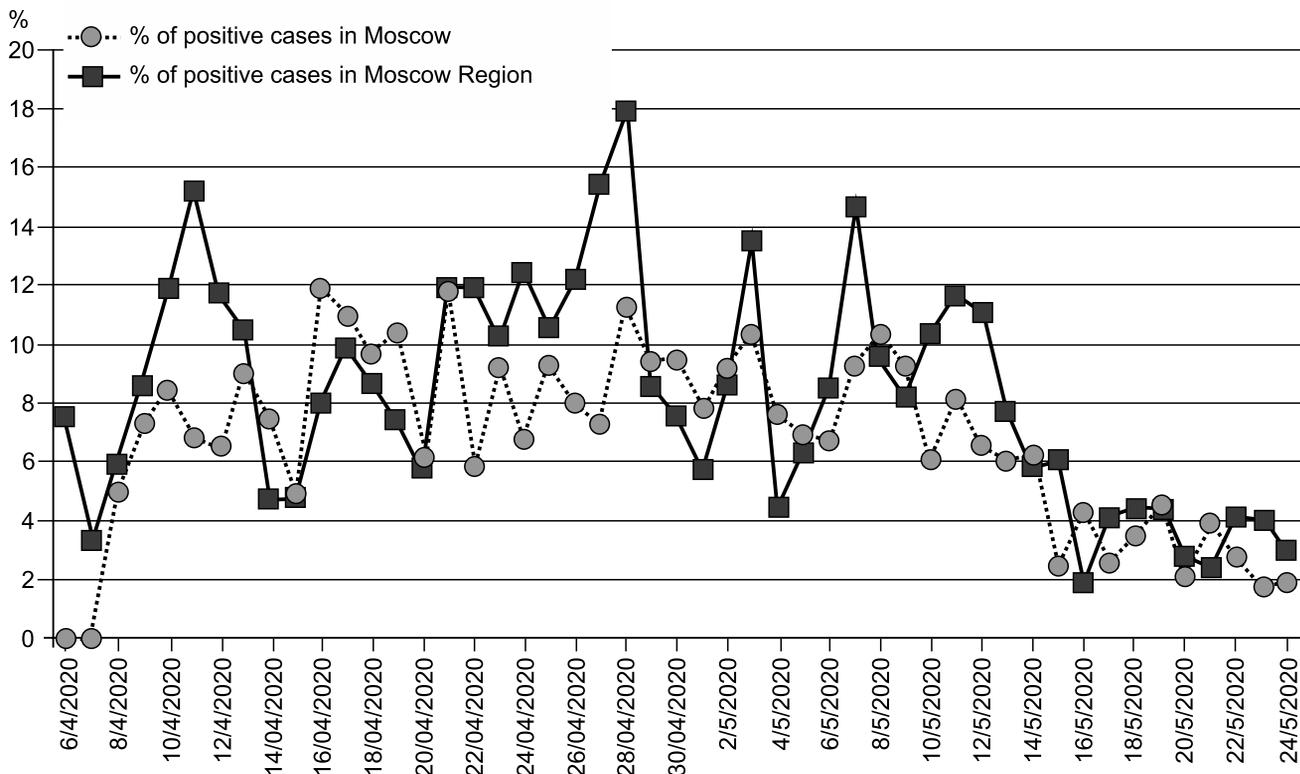
The minimum values were observed during the overall decrease in the detection frequency of SARS-CoV-2 RNA and amounted to 2.7% (20/5/2020), 2.5% (21/5/2020) and 2.8% (24/5/2020). In Moscow, the peak values were slightly lower and amounted to 11.9% (16/4/2020), 11.0% (17/4/2020), 11.9% (21/4/2020), 11.2% (28/4/2020) and 10.4% (8/5/2020). The minimum values were also registered during the last days of the monitoring period from 23/5/2020 to 24/5/2020 (1.8% and 1.9%, respectively).

Based on the curve values of the frequency of SARS-CoV-2 RNA detection among the population, we singled out three time segments (6/4/2020–28/4/2020, 29/4/2020–12/5/2020 and 13/5/2020–24/5/2020), for which dynamic trends of the analyzed indicator were estimated. During 6/4/2020–28/4/2020, the moderate increase at positive growth rates of 1.3% and 3.0% per day was registered in Moscow and Moscow Region, respectively. In our opinion, the increasing number of potential sources of infection is indicative of intensification of the COVID-19 epidemic process in the studied territories of Russia.

In the middle of the monitoring period (29/4/2020–12/5/2020), Moscow and Moscow Region showed differences in the dynamics of the analyzed indicator. In Moscow, the frequency of SARS-CoV-2 RNA detection in the population began decreasing at a moderate negative rate of 1.8% per day, while Moscow Region continued demonstrating moderate increase at a positive rate of 3.3% per day.

The last 10 days of the monitoring period were characterized by rapidly decreasing frequency of SARS-CoV-2 RNA detection, demonstrating negative growth rates of 5.9% and 11.1% per day in Moscow and Moscow Region, respectively.

<sup>1</sup> Hereinafter parentheses contain a 95% confidence interval.



The rate of SARS-CoV-2 circulation among relatively healthy residents of Moscow and Moscow Region during the COVID-19 epidemic outbreak

In the meantime, the positive trend in development of the COVID-19 epidemic process, which was suggested by the dynamics of the frequency of SARS-CoV-2 detection in the population, does not imply overall epidemiological welfare. In our opinion, the rate of circulation of SARS-CoV-2 in a population is one of the indicators that can provide a quantitative assessment of the epidemiological situation. We compared mean frequencies of detection of SARS-CoV-2 RNA in the examined individuals at 7–9-days intervals from 6/4/2020 to 24/5/2020 (Table).

It can be said that during the entire monitoring period, Moscow and Moscow Region demonstrated a substantial (3–4-fold;  $p < 0.001$ ) decrease in the proportion of the individuals who were potential sources of infection, which, in our opinion, can serve as a prediction of further improvement of the epidemiological situation.

The obtained data indicate the effectiveness of the implemented epidemic control measures. The mandatory self-isolation imposed in Moscow on 25/3/2020 began to have a significant effect resulting in a decrease in the proportion of individuals infected with SARS-CoV-2 approximately by the 6<sup>th</sup>–7<sup>th</sup> week (Figure). We assume that the time when the self-isolation in Moscow started having its impact and the time when the frequency of SARS-CoV-2 started decreasing can be indicative of the COVID-19 incubation period lasting more than 14 days as well as of the long duration of virus shedding in convalescent patients, though our assumption requires a thorough study [1].

At the same time, this improvement of the epidemiological situation is not sufficient for immediate and total lifting of the restrictive measures, as herd immunity against SARS-CoV-2 RNA has not been achieved yet. The preliminary data indicate that at the epidemic

The mean frequency of detection of SARS-CoV-2 RNA in Moscow and Moscow Region, 6/4/2020–24/5/2020

Duration of study	Moscow		Moscow Region	
	%	95% confidence interval	%	95% confidence interval
6/4/2020–12/4/2020	7,04	6,13–8,04	11,66	10,09–13,39
28/4/2020–4/5/2020	7,60	6,90–8,35	8,53	7,63–9,50
16/5/2020–24/5/2020	3,30	2,93–3,70	3,39	3,06–3,75

stage defined as stabilization (by the dynamics of the COVID-19 incidence), from 16/5/2020 to 24/5/2020, the frequency of detection of specific antibodies to SARS-CoV-2 in the random selection of individuals in Moscow Region was 12–15%, thus totally correlating with our data on the virus circulation rate among population.

The detection of SARS-CoV-2 RNA in different groups of patients had high diagnostic significance. SARS-CoV-2 RNA was detected in 81.65% (81.18–82.11%) cases among the patients provisionally diagnosed with acute respiratory viral infection. It means that amid the COVID-19 epidemic this etiological agent is the primary one for this specific disease. Among the patients diagnosed with pneumonia, which was supported by the clinical evidence, SARS-CoV-2 RNA was detected in 70.92% (70.22–72.61%) cases. The frequency of detection of SARS-CoV-2 RNA in individuals who were in contact with COVID-19 patients was quite high, amounting to 65.78% (65.23–66.33%). The fact that 2/3 of the exposed individuals were infected indicates a high level of SARS-CoV-2 contagiousness and corresponds to the later model of the COVID-19 spread [2, 3]. The separate group included patients examined by the doctor's order. During the epidemic, the frequency of SARS-CoV-2 RNA detection was 77.34% (76.53–78.13%).

The obtained results demonstrate that PCR-based detection of SARS-CoV-2 during the COVID-19 epidemic outbreak in Russia has critical and independent significance. Firstly, the examination for presence of SARS-CoV-2 RNA is important for timely identification and isolation of potentially infectious individuals as well as for etiological differential diagnosis to distinguish from other acute respiratory diseases and influenza, which has fundamental significance in prevention of SARS-CoV-2 spread. Secondly, the accurate identification of the etiology of a disease is an essential prerequisite for the correct decision regarding case management. Thirdly, the performed dynamic population-based study showed that obtained results are important in assessing the stage of the COVID-19 epidemic development [4].

In our study, during the first week (6/4/2020–12/4/2020) the frequency of detection of SARS-CoV-2 RNA among randomly selected healthy people was 7.04% and 11.66% in Moscow and Moscow Region, respectively. It means that 1 of 10–13 individuals who consider themselves healthy is infected and is a potential source of infection for other people. Such virus carriers are responsible for the high intensity of the epidemic process in Moscow and Moscow Region.

#### Information about the authors

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

In the middle of the studied period (28/4/2020–4/5/2020) the frequency of detection of SARS-CoV-2 RNA remained unchanged (7.60%) in Moscow, while the detection frequency in Moscow Region demonstrated a slight decrease (8.53%). The highly important fact is that the proportion of the infected individuals reduced significantly during the last week (16/5/2020–24/5/2020). In Moscow and Moscow Region, SARS-CoV-2 RNA was detected in 3.30 and 3.39% of the examined individuals, respectively.

Thus, the frequency of SARS-CoV-2 circulation in a population is an essential integrative epidemiological indicator providing reliable assessment of the intensity of the epidemic process and effectiveness of the epidemic control measures [5].

The mass, population-based screening for presence of SARS-CoV-2 RNA is a vitally important epidemic control method providing real-time and unbiased information about development of the epidemic process. Considering their significance for assessment of the epidemiological situation, proportions of infected individuals among healthy groups, which demonstrate rates of virus circulation among the population, most likely, will be used as one of the monitoring parameters in the system of epidemiological surveillance [5, 6].

#### REFERENCES

- Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January–March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
- Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. Contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
- Courtemanche C., Garuccio J., Le A., Pinkston J., Yelowitz A. Strong social distancing measures in the United States reduced the COVID-19 growth rate. *Health Aff. (Millwood)*. 2020; 101377hlthaff202000608. DOI: <http://doi.org/10.1377/hlthaff.2020.00608>
- Omori R., Mizumoto K., Chowell G. Changes in testing rates could mask the novel coronavirus disease (COVID-19) growth rate. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94: 116–8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.021>
- Signorelli C., Scognamiglio T., Odone A. COVID-19 in Italy: impact of containment measures and prevalence estimates of infection in the general population. *Acta Biomed.* 2020; 91(3-S): 175–9. DOI: <http://doi.org/10.23750/abm.v91i3-S.9511>
- Shearer F.M., Moss R., McVernon J., Ross J.V., McCaw J.M. Infectious disease pandemic planning and response: Incorporating decision analysis. *PLoS Med.* 2020; 17(1): e1003018. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003018>

#### Информация об авторах:

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

*Stanislav N. Kuzin*<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med.), prof., Head, Laboratory of viral hepatitis, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>.

E-mail: [drkuzin@list.ru](mailto:drkuzin@list.ru).

*Olga Yu. Shipulina* — PhD (Med.), Head of subdivisions, of laboratory medicine and laboratory services promotion, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-6772>.

*Svetlana B. Yatsyshina* — PhD (Biol.), senior researcher, Head, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4737-941X>.

*Elena V. Tivanova* — Head, area of laboratory medicine and laboratory services promotion, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1286-2612>.

*Anna V. Kalenskaya* — Deputy head, area of laboratory medicine and laboratory services promotion for customer service, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9126-1155>.

*Irina V. Solovieva* — Head, Quality assurance group, Clinical and diagnostic laboratory, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

*Marina A. Vershinina* — leading consultant in laboratory medicine, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8582-5199>.

*Olga A. Kvasova* — epidemiologist, Laboratory of Infections associated with the provision of medical assistance, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4545-1804>.

*Antonina A. Ploskireva* — D. Sci. (Med.), Deputy Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>.

*Marina V. Mamoshina* — junior researcher, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1419-7807>.

*Mariya A. Elkina* — junior researcher, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4769-6781>.

*Elena E. Andreeva* — D. Sci. (Med.), prof., Head, Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6687-7276>.

*Alexandr V. Ivanenko* — chief physician, Center for Hygiene and Epidemiology in the City of Moscow, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7122-017X>.

*Olga M. Mikailova* — PhD (Med.), Head, Office of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being in Moscow Region, Mytishchi, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3842-6368>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

*Кузин Станислав Николаевич*<sup>✉</sup> — д.м.н., проф., зав. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>.

E-mail: [drkuzin@list.ru](mailto:drkuzin@list.ru).

*Шипулина Ольга Юрьевна* — к.м.н., рук. подразделения лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4679-6772>.

*Яцышина Светлана Борисовна* — к.б.н., с.н.с., отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4737-941X>.

*Тиванова Елена Валерьевна* — рук. направления лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1286-2612>.

*Каленская Анна Валентиновна* — зам. рук. направления лабораторной медицины и продвижения лабораторных услуг по клиентскому сервису отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9126-1155>.

*Соловьева Ирина Владимировна* — рук. группы обеспечения качества Клинико-диагностической лаборатории ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

*Вершинина Марина Анатольевна* — ведущий консультант по лабораторной медицине отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8582-5199>.

*Квасова Ольга Андреевна* — врач-эпидемиолог лаборатории инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4545-1804>.

*Плоскирева Антонина Александровна* — д.м.н., зам. директора ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>.

*Мамошина Марина Васильевна* — м.н.с. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1419-7807>.

*Елькина Мария Александровна* — м.н.с. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4769-6781>.

*Андреева Елена Евгеньевна* — д.м.н., проф., рук. Управления Роспотребнадзора по городу Москве, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6687-7276>.

*Иваненко Александр Валентинович* — главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7122-017X>.

*Микаилова Ольга Михайловна* — к.м.н., рук. Управления Роспотребнадзора по Московской области, Мытищи, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3842-6368>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Мескина Е.Р., 2020



# Предварительный клинико-эпидемиологический анализ первых 1000 случаев COVID-19 у детей в Московской области

Мескина Е.Р.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, Российская Федерация

**Актуальность.** Новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2 (COVID-19), продолжает распространяться по миру, однако эпидемиологическая ситуация отличается в разных странах. Представляет интерес оценить педиатрическую заболеваемость в отдельном субъекте России — Московской области (МО), тесно взаимосвязанной с Москвой (где зарегистрировано максимальное количество случаев COVID-19 в России). Оценка эпидемиологических данных интересна в связи с поздним началом эпидемического подъема, внедрением на ранних этапах превентивного локдауна, широким тестированием всех выявленных контактных лиц.

**Цель работы** — оценить педиатрическую заболеваемость COVID-19 с определением ее ведущих клинико-эпидемиологических характеристик на материалах официального мониторинга за текущей ситуацией в МО.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ всех педиатрических случаев лабораторно подтвержденной COVID-19 в МО (1047 детей всех возрастов) с момента начала регистрации в порядке ежедневного мониторинга за эпидемиологической ситуацией (суммарно в течение 53 дней). Информация извлечена из базы данных Территориального управления Роспотребнадзора МО и собрана в рамках свода по форме «Ежедневный мониторинг детей с коронавирусной инфекцией», приложение ГАС «Управление» МО.

**Результаты.** Доля педиатрических случаев COVID-19 среди всех зарегистрированных на 06.05.2020 (16 590) составила 6,3% (95% ДИ<sup>1</sup> 5,9–6,7), общая инфицированность педиатрической популяции субъекта — 0,07% (0,06–0,09). Средний индекс репродукции колебался в пределах от 4,8 (на этапе двухнедельного экспоненциального роста) до 2,7 (в последующем периоде более медленного прироста заболеваемости) и составил в среднем 3,8 (3,0–4,57). Коэффициент очаговости COVID-19 среди детей был высоким — 82,8% (79,7–85,6) с небольшим средним числом выявленных случаев в очаге — 1,21 (1,16–1,26). Значительно преобладали бессимптомные формы COVID-19 — 62,2% (59,2–65,1), в том числе у новорожденных — 73,1%, с низкой частотой тяжелых форм — 0,38% (0,35–0,41) и низким индексом госпитализации — 12,0 (10,1–14,2). Летальность отсутствовала. Средний возраст заболевших и инфицированных — 8 [4; 13] лет. Мальчики преобладали незначительно (53,2%).

**Выводы.** Прослеживается отчетливая этапность развития эпидемической ситуации среди детей в МО. Передача COVID-19 в детской популяции осуществлялась главным образом в семейных очагах с вторичным распространением. Благодаря ранним превентивным мерам и широкому тестированию период экспоненциального роста был коротким, удалось избежать крупных очагов инфекции, дополнительно выявлено 17,2% очагов COVID-19, в которых первым заболевшим был ребенок. Необходимо в дальнейшем соблюдать дистанцирование и обеспечивать эффективную изоляцию заболевших детей и взрослых, поскольку вероятность высокой педиатрической заболеваемости может запаздывать по сравнению со взрослыми.

**Ключевые слова:** дети; коронавирусная инфекция; SARS-CoV-2; эпидемиология COVID-19; эпидемиологический анализ.

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

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

**Для цитирования:** Мескина Е.Р. Предварительный клинико-эпидемиологический анализ первых 1000 случаев COVID-19 у детей в Московской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(3): 202–215.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-2>

Поступила 20.05.2020  
Принята в печать 25.05.2020

<sup>1</sup> Здесь и далее в скобках приведен 95% доверительный интервал.

# Preliminary Clinical and Epidemiological Analysis of the First 1,000 Pediatric COVID-19 Cases in Moscow Region

Elena R. Meskina<sup>✉</sup>

M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, 129110, Moscow, Russian Federation

**Rationale.** The novel coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 (COVID-19) continues to spread worldwide, though the epidemiological situation varies across countries. It is of interest to estimate the pediatric incidence in a separate constituent entity of the Russian Federation, Moscow Region (MR) closely connected with Moscow (accounting for the highest number of COVID-19 cases in Russia). Assessment of the epidemiological data is interesting due to the late onset of the epidemic outbreak, the preventive lockdown imposed during the early stages, and extensive testing of all the identified contacts.

**Purpose** of the study: Assessment of the pediatric incidence of COVID-19, including identification of its main clinical and epidemiological characteristics, based on the monitoring data for the current situation in MR.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of all pediatric cases of laboratory-confirmed COVID-19 in MR (1,047 children of all ages) was performed. The time span covered the data of the daily monitoring of the epidemiological situation from the beginning of reporting (53 days in total). The information was obtained from the database of the Rospotrebnadzor Territorial Administration of MR and collected in compliance with the regulations on Daily Monitoring of Children with Coronavirus Infection, Management Section, State Information System, MR.

**Results.** The pediatric cases of COVID-19 accounted for 6.3% (95% CI<sup>2</sup> 5.9–6.7) of all the cases reported by 6/5/2020 (16,590); the total infection rate of the pediatric population in the region was 0.07% (0.06–0.09). The basic reproduction number ranged from 4.8 (during the two-week exponential growth phase) to 2.7 (during the later period characterized by a slowdown in the incidence rate) and averaged 3.8 (3.0–4.57). The clustering rate of COVID-19 among children was high, reaching 82.8% (79.7–85.6) with a small average number of cases detected in the cluster — 1.21 (1.16–1.26). Asymptomatic COVID-19 cases prevailed significantly, amounting to 62.2% (59.2–65.1), including 73.1% in newborns; severe cases accounted for 0.38% (0.35–0.41) and hospitalized cases totaled 12.0 (10.1–14.2). No death cases were reported. The mean age of the diseased and infected was 8 [4; 13] years old. Boys prevailed insignificantly (53.2%).

**Conclusion.** There is a distinct stage-by-stage development of the epidemic situation among children in MR. In the pediatric population, COVID-19 was generally acquired from a secondary household transmission within family clusters. Early preventive measures and extensive testing helped to reduce the period of exponential growth and, therefore, to avoid large clusters of infection. In addition, 17.2% of the COVID-19 clusters were identified as those where the child was the first to become sick. In the future, it is necessary to practice distancing and provide effective isolation of diseased children and adults, since the high rate of incidence in children can lag behind the incidence rate in adults.

**Keywords:** children; coronavirus infection; SARS-CoV-2; COVID-19 epidemiology; epidemiological analysis.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The author declares no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Meskina E.R. Preliminary clinical and epidemiological analysis of the first 1,000 pediatric COVID-19 cases in Moscow Region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 202–215. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-2>

Received 20 May 2020

Accepted 25 May 2020

## Актуальность

Пандемия, вызванная новым коронавирусом, ассоциированным с тяжелым острым респираторным синдромом (SARS-CoV-2), быстро распространяется и во многих странах характеризуется экспоненциальным ростом. В течение немногим более 4 мес пандемия подорвала даже самые устойчивые системы здравоохранения, имеет значительные негативные последствия для отдельных людей, всего человеческого сообщества и уже привела к социальной и экономической дестабилизации во всем

мире<sup>3</sup>. Вместе с тем она инициировала беспрецедентный рост числа научных исследований, посвященных различным аспектам проблемы, начиная от изучения генома SARS-CoV-2, эпидемиологических и клинических характеристик заболевания (COVID-19) до разработки актуальных терапевтических стратегий и вакцин. Новая научная информация становится доступной исключительно бы-

<sup>2</sup> Hereinafter parentheses contain a 95% confidence interval.

<sup>3</sup> ВОЗ. Обновленная стратегия борьбы с COVID-19. 14.04.2020. URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/strategies-plans-and-operations> (дата обращения 20.05.2020).

стро, что динамично меняет взгляд на эпидемиологическую ситуацию и потенцирует обновление мер по сдерживанию распространения SARS-CoV-2.

Эпидемиологические кривые, демонстрирующие динамику COVID-19 в разных странах, имеют географические отличия<sup>4</sup>, которые обусловлены взаимодействием целого ряда факторов (внешними и внутренними коммуникациями, размером страны и плотностью населения, географическим положением, характером и скоростью принятия радикальных ограничительных мер, использованием средств самозащиты и социальной ответственностью населения). Кроме того, зарегистрированное число случаев COVID-19 непосредственным образом зависит от критериев тестирования, регламентированных национальными программами противодействия пандемии. В России тестирование проводится по расширенным показаниям с охватом не только прибывших из-за рубежа и заболевших с симптомами, не исключаяющими COVID-19, но и контактных лиц в очагах, медицинских работников, лиц старше 65 лет, детей и взрослых из учреждений круглосуточного пребывания при наличии респираторных симптомов<sup>5</sup>. Такой подход позволяет более точно оценить эпидемиологическую ситуацию, которая может отличаться от других стран благодаря широкой регистрации легких и бессимптомных форм инфекции.

В настоящее время уже известно, что SARS-CoV-2 развивается за пределами Юго-Восточной Азии, где зарегистрировано начало пандемии, причем специфичные для регионов европейские, североамериканские и азиатские штаммы сосуществуют [1]. Вирус обновляется внутри хозяина и эволюционирует во время эпидемической передачи в разных странах, причем наблюдаемая частота мутаций, изменчивость штамма, генетический отбор создают сложный клинический сценарий [1–3]. По мнению некоторых исследователей, в настоящий момент обнаружены три главных геномных варианта, которые могут модулировать клиническую картину и эпидемиологию заболевания [4]. Оценка эпидемиологического статуса России, в которой SARS-CoV-2 распространился позже Европы и США и где на раннем этапе был внедрен превентивный локдаун, существенно дополняет глобальную характеристику пандемии.

<sup>4</sup> Geographic distribution of COVID-19. European Centre for Disease Prevention and Control. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases> (дата обращения 20.05.2020).

<sup>5</sup> Методические рекомендации МР 3.1.0170-20. Эпидемиология и профилактика COVID-19 (в редакции МР 3.1.0175-20 «Изменения № 1 в МР 3.1.0170-20 «Эпидемиология и профилактика COVID-19», утв. Роспотребнадзором 30.04.2020). URL: [https://www.rospotrebнадzor.ru/upload/iblock/070/metod\\_recomend\\_3.1.0170\\_20\\_v\\_1.pdf](https://www.rospotrebнадzor.ru/upload/iblock/070/metod_recomend_3.1.0170_20_v_1.pdf) (дата обращения 20.05.2020).

Эпидемиологические исследования заболеваемости COVID-19 в педиатрической популяции представляют интерес, поскольку одной из особенностей и неясных ключевых характеристик пандемии SARS-CoV-2 является более низкая восприимчивость детей по сравнению со взрослыми. Системные обзоры J.F. Ludvigsson (45 публикаций) [5] и «более поздняя» работа I. Liguoro и соавт. (65 публикаций) [6] наглядно продемонстрировали меньшую частоту случаев, более легкое течение с крайне редкими летальными исходами. Это существенно отличает COVID-19 от других респираторных инфекций, в том числе вызванных иными вариантами коронавируса. Причина этих событий обсуждается лишь на уровне гипотез. Среди них — качественно отличный иммунный ответ у детей на SARS-CoV-2 по сравнению со взрослыми, конкуренция с другими респираторными вирусами, различия экспрессии рецептора ангиотензинпревращающего фермента 2, необходимого для связывания SARS-Cov-2 и инфекции, использование взрослыми лекарственных препаратов, блокирующих рецепторы ангиотензина при лечении гипертонии [7, 8]. Следует отметить, что в основном представлены наблюдения, охватывающие небольшое количество педиатрических случаев. Наиболее заметная работа Y. Dong и соавт. [9] включила более 2135 пациентов, главным образом с симптомами заболевания, однако только у 728 из них COVID-19 была подтверждена лабораторно и 1407 были подозрительными случаями.

Поэтому результаты клинико-эпидемиологического анализа крупных когорт детей с широким тестированием на COVID-19 смогут более точно отобразить состояние детской заболеваемости. В дополнение следует подчеркнуть еще одно обстоятельство, повышающее значение такого анализа. Московская область (МО) — отдельный субъект России, непосредственно граничащий с Москвой, в которой зарегистрировано наибольшее число случаев COVID-19 в России<sup>6</sup>. МО занимает 2-е ранговое место в России по численности населения после Москвы, однако плотность населения в ней значительно меньше. Тесные экономические, социальные и культурные связи, единая транспортная система обозначают риски распространения новой коронавирусной инфекции в регионе.

Вышесказанное определяет актуальность проведенной работы.

**Цель работы** — оценить педиатрическую заболеваемость COVID-19 с определением ее ведущих клинико-эпидемиологических характеристик на материалах официального мониторинга за текущей ситуацией в МО.

<sup>6</sup> Официальный сайт Министерства здравоохранения по COVID-19 в России. URL: <https://covid19.rosminzdrav.ru> (дата обращения 20.05.2020).

## Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ всех педиатрических случаев подтвержденной COVID-19 в МО с момента начала регистрации в порядке ежедневного мониторинга за эпидемиологической ситуацией (проводился с 02.04.2020) на 06.05.2020. Информация о пациентах (возраст, пол, место жительства, повод и дата обследования, клиническая форма заболевания) извлечена из базы данных Территориального управления Роспотребнадзора МО. Сведения о форме тяжести, сроках госпитализации или амбулаторном наблюдении собраны в рамках свода по форме «Ежедневный мониторинг детей с коронавирусной инфекцией», приложение ГАС «Управление» МО. Учет случаев осуществлен на дату регистрации (дату получения сведений о положительном тесте на COVID-19).

Для диагностики COVID-19 в аккредитованных лабораториях МО использовались различные тест-системы, зарегистрированные на территории России: ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией «Вектор-ПЦРrv-2019-nCoV-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирск, Кольцово), ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией «Вектор-OneStep ПЦР-CoV-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирск, Кольцово), «ОТ-ПЦР в режиме реального времени РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест»), «ОТ-ПЦР в режиме реального времени SARS-CoV-2/SARS-CoV» (ООО «ДНК-Технология-ТС», Москва), ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией «АмплиСенс® Cov-Bat-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). В течение первых 3 нед положительные и сомнительные биологические образцы были протестированы повторно в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирск.

Учитывая, что сведения о пациентах содержались в стандартном направлении на тестирование COVID-19, а также были необходимы для слежения за эпидемиологической ситуацией с целью принятия организационных мер (при необходимости), этическую экспертизу работа не проходила.

Статистическая обработка данных производилась с помощью программного пакета «Statistica 6.0» («StatSoft Inc.», США). Качественные признаки представлены в виде среднего арифметического  $\pm$  стандартное отклонение ( $\sigma$ ) или в виде медианы ( $Me$ ), нижнего и верхнего квартилей. Дискретные признаки представлены в виде частоты событий, выраженной в процентах (%) или просантимилле (0/0000) от общего числа пациентов. Сравнение двух групп по качественным признакам проведено с использованием критерия  $\chi^2$ , сравнение нескольких групп одновременно — с использованием критерия  $\chi^2$  для произвольных таблиц. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . При нали-

чии статистической разницы дальнейшее попарное сравнение групп проводили с применением поправки Йетса. Для качественной оценки значения разницы были рассчитаны 95% доверительный интервал для средних величин, доли и отношение шансов.

Рассмотрены коэффициенты, характеризующие эпидемический процесс. Индекс репродукции ( $R$ , базовое репродуктивное число) инфекции [10] рассчитывали с учетом того, что длительность инкубационного и заразного периода COVID-19 составляет примерно 4 дня [11]. В качестве обязательного условия было принято, что инфекция в популяции поддерживается, если  $R > 1$ , т.е. среднее число вторичных случаев инфекции, вызываемых одним инфицированным индивидом в популяции восприимчивого населения, должно быть более 1. Сила инфекции ( $\lambda$ ) рассматривалась как удельная скорость инфицирования восприимчивого населения в единицу времени [12]. Инфицированность педиатрической популяции (%) рассчитывали как число случаев подтвержденной COVID-19 на численность детей младше 18 лет в МО, индекс госпитализации — как долю (%) числа госпитализаций к общему числу выявленных случаев. Оценивали очаговость — отношение (%) числа выявленных к числу очагов инфекции, коэффициент очаговости — долю (%) очагов с вторичным распространением к общему количеству очагов, индекс очаговости как среднее число случаев в одном очаге [13]. Расчет очаговости проведен только среди детей. Восприимчивым считали все детское население, учитывая, что инфекция, вызванная SARS-CoV-2, является новой для человеческой популяции.

## Результаты

На 06.05.2020 в МО зарегистрировано 1047 педиатрических случаев COVID-19 различной формы тяжести, 6,3% общей заболеваемости (16 590 случаев<sup>7</sup>, табл. 1). Кумулятивная инфицированность детского населения за этот период была достаточно низкой (см. табл. 1).

Первые педиатрические случаи COVID-19 выявлены в середине марта 2020 г. у 3 подростков, посещавших Европу.

Можно выделить три этапа эпидемического подъема заболеваемости с достаточно четко ограниченными временными интервалами:

- *первый этап* — от начала до 02.04.2020, когда регистрировались единичные случаи (11 человек) среди посещавших Европу и ОАЭ (8 случаев, в том числе младенец 9 мес) или после контакта с приехавшими из-за рубежа (3 человека);

<sup>7</sup> Официальный сайт Министерства здравоохранения COVID-19 в России. URL: <https://covid19.rosminzdrav.ru> (дата обращения 20.05.2020).

**Таблица 1.** Основные эпидемиологические критерии эпидемической ситуации по COVID-19 в педиатрической популяции Московской области на 06.05.2020**Table 1.** The main epidemiological criteria for the epidemic situation of COVID-19 in the pediatric population of Moscow Region by May 6, 2020

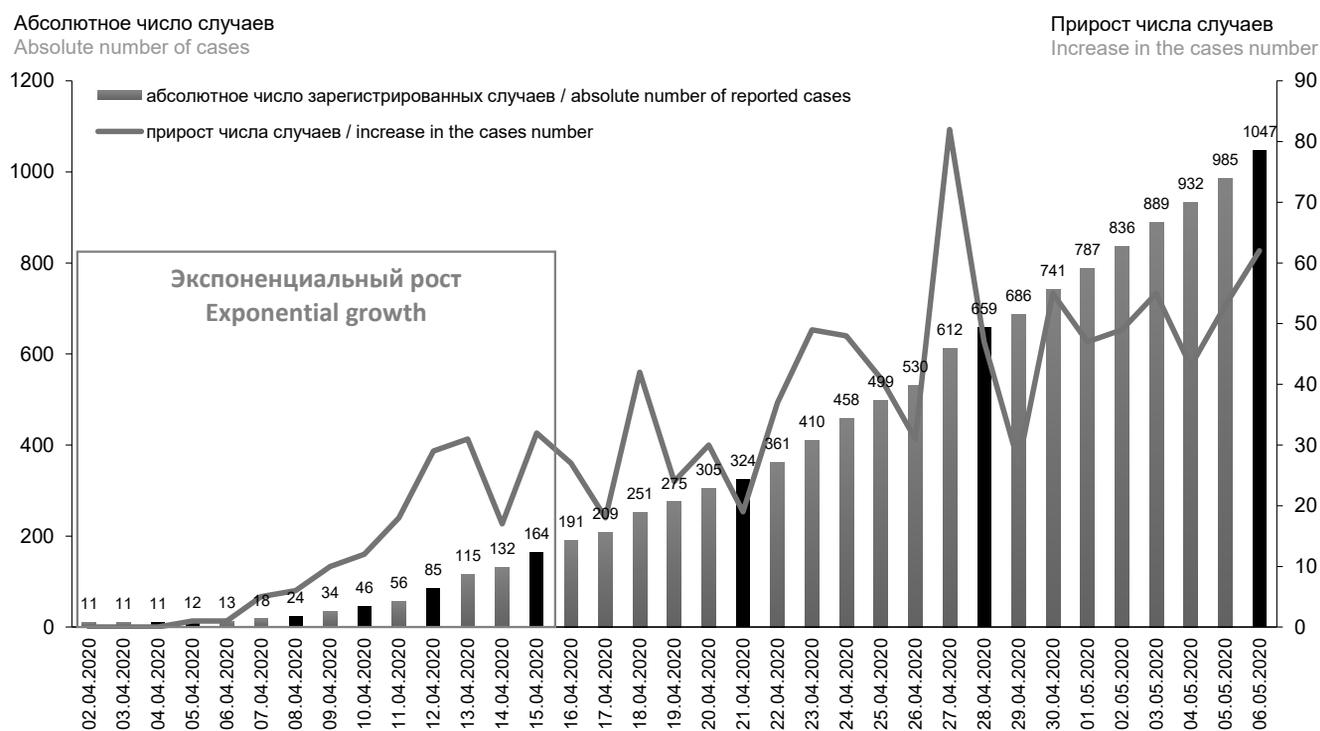
Показатель Indicator	Значение показателя Indicator value	95% ДИ 95% CI
Доля педиатрических случаев в общем количестве зарегистрированных случаев, % The proportion of pediatric cases in the total number of reported cases, %	6,3	5,9–6,7
Инфицированность педиатрической популяции, % Pediatric infection, %	0,07	0,06–0,09
Заболееваемость детей в апреле 2020 г., ‰ <sub>0000</sub> Incidence in children, April, 2020, ‰ <sub>0000</sub>	52,0	50,9–53,1
Индекс репродукции, $M \pm \sigma$ Reproduction number, $M \pm \sigma$	3,8 ± 0,91	3,0–4,6
Очаговость, % Clustering, %	121,2	97,7–149,2
Коэффициент очаговости, % Focal rate, %	82,8	79,7–85,6
Индекс очаговости, $M \pm \sigma$ Clustering index, $M \pm \sigma$	1,21 ± 0,61	1,16–1,26
Средний возраст, Ме [нижний; верхний квартиль] Mean age, Me [lower; upper quartile]	8 [4; 13]	8,13–8,77
Индекс госпитализации, % Hospitalization rate, %	12,0	10,1–14,2
Тяжелые формы, % Severe forms, %	0,38	0,35–0,41
Бессимптомные формы, % Asymptomatic forms, %	62,2	59,2–65,1
Пневмония, % Pneumonia, %	11,7	9,8–13,8
Инфекции верхних дыхательных путей, % Upper respiratory tract infection, %	26,1	23,4–28,9
Летальность Mortality	0	–

- *второй этап* — 2 нед экспоненциального роста заболеваемости ( $R = 3,85–4,77$ ) с удвоением числа случаев в среднем за 2–3 дня;
- *третий этап* — более продолжительный и не закончившийся к моменту проведенного анализа, характеризовался замедлением интенсивности заражения, абсолютный прирост инфицированных приобрел характер ломаной кривой ( $R = 2,92–2,69$ ; **рис. 1**).

Эффективная скорость репродукции инфекции за анализируемый период колебалась в пределах 4,77–2,69 со средним индексом репродукции 3,8 (95% ДИ 3,0–4,57). Немногочисленные случаи COVID-19, ассоциированные с поездками и контактами с выезжавшими, регистрировались до 15.04.2020, но уже начиная с 02.04.2020 отмечился рост заболеваний среди детей с вторичным распространением инфекции в семейных очагах, который и обеспечил основную заболеваемость детского населения МО.

На временную точку проведенного анализа случаи COVID-19 были зарегистрированы в 55 (82,1%) городских округах и муниципальных районах МО. Однако 43,2% общей заболеваемости среди детей обеспечили 8 (11,9%) территориальных образований, окружающих Москву.

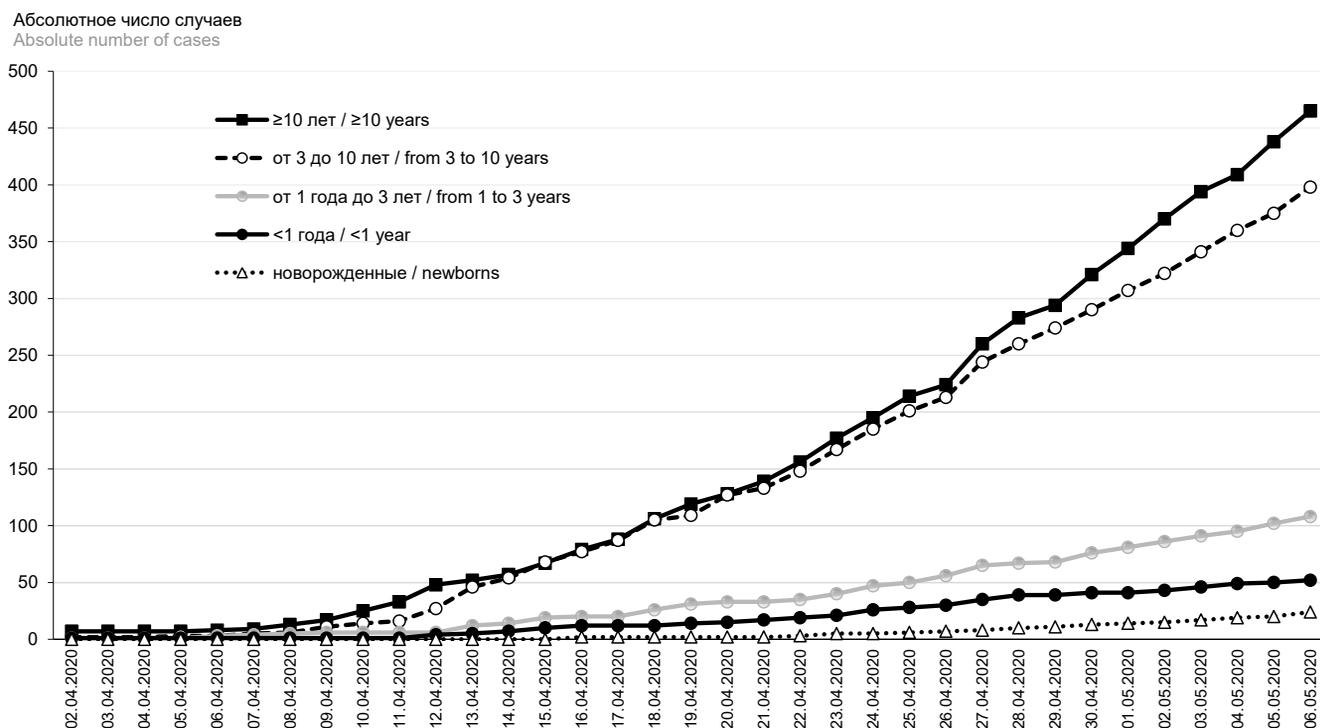
Средний возраст инфицированных составил 8 [4; 13] лет, в возрастной структуре значительно преобладали дети старше 3 лет. Возрастной состав включенных в анализ был следующим: дети 1-го года жизни — 7,3% (76), в том числе новорожденные 2,5% (26), раннего возраста — 10,3% (108), 3–10 лет — 38,0% (398), подростки — 44,4% (465). За исключением одного младенца, выезжавшего на отдых с родителями в ОАЭ, новые случаи COVID-19 среди детей младше года появились к концу 4-й недели мониторинга, а первые случаи среди новорожденных — еще позже, к концу 5-й недели (**рис. 2**). На рис. 2 видно, что заболеваемость детей раннего возраста и младенцев значительно отставала от



**Рис. 1.** Кумулятивный итог абсолютного числа и прирост случаев COVID-19 в педиатрической популяции МО. Черные столбики — удвоение числа случаев COVID-19.

**Fig. 1.** The cumulative total of the absolute number and increase in COVID-19 cases in the pediatric population of Moscow Region.

Black bars indicate the doubling in the number of COVID-19 cases.



**Рис. 2.** Кумулятивный итог абсолютного числа случаев COVID-19 среди детей различного возраста в МО на дату регистрации.

**Fig. 2.** Cumulative result of the absolute number of COVID-19 cases among children of different age in Moscow Region by the date of reporting.

таковой среди детей старше 3 лет, причем по мере развития эпидемической ситуации этот разрыв увеличился, хотя возрастная структура COVID-19 в динамике мониторинга статистически не изменилась (рис. 2; табл. 2). В гендерной структуре незначительно преобладали мальчики — 53,2% (девочки — 46,8%).

Эпидемиологический анамнез был доступен анализу у 808 детей. Прослеживается отчетливая очаговость COVID-19 (табл. 3). Максимальное количество случаев COVID-19 выявлено в семейных очагах — 665 (82,3%). Значительно реже прослеживались иные контакты: выезжали за рубеж 12 детей (1,5%), контактировали с приехавшими — 3 (0,4%), в медицинских учреждениях — 4 (0,5%), с другими людьми — 11 (1,4%). Были обследованы в связи с симптомами респираторной инфекции 42 (5,2%) ребенка, по поводу пневмонии — 71 (8,8%).

Из табл. 1 и 3 видно, что в МО на стадии развития эпидемического подъема преобладали очаги

с распространением COVID-19, однако индекс очаговости был небольшим. Выявлены очаги в основном с одним случаем заражения детей, что было обусловлено их размерами. В многодетных семьях нередко инфицировались все дети, с наибольшим количеством заболевших — 8 человек. Отсутствовали крупные очаги с множественными вторичными заражениями в детских медицинских и других организациях, а также учреждениях с круглосуточным уходом. Благодаря широкому обследованию детей с симптомами ОРВИ и пневмонии, не исключая COVID-19, было дополнительно выявлено 17,2% очагов инфицирования.

В структуре клинических форм COVID-19 значительно преобладало бессимптомное течение инфекции (62,2%; табл. 4). Частота пневмонии была небольшой — 11,7%. И только у 4 подростков старше 12 лет диагностирована тяжелая форма пневмонии, причем в инвазивной искусственной вентиляции легких нуждался только 1 пациент. В том числе

**Таблица 2.** Сила ( $\lambda$ ) и возрастная структура COVID-19 в течение 4 нед подъема педиатрической заболеваемости в МО  
**Table 2.** Force ( $\lambda$ ) and COVID-19 age structure during the four week increase in pediatric incidence in Moscow Region

Неделя мониторинга (даты) Monitoring week (dates)	Сила инфекции ( $\lambda$ ), ‰ <sub>0000</sub> Force of infection ( $\lambda$ ), ‰ <sub>0000</sub>	Число случаев за неделю Number of cases per week	Возрастная структура COVID-19, абс. (%) Age structure of COVID-19, abs (%)				p (age structure)
			<1 года <1 year	1–3 года from 1 to 3 years old	от 3 до 10 лет from 3 to 10 years old	≥10 лет ≥10 years old	
06.04–12.04.2020	5,71	74	4 (5,4)	4 (5,4)	25 (33,8)	41 (55,1)	>0,05 df = 9
13.04–19.04.2020	18,46	190	12 (6,3)	25 (13,2)	82 (43,2)	71 (37,4)	
20.04–26.04.2020	35,58	255	21 (8,2)	25 (9,8)	104 (40,8)	105 (41,2)	
27.04–03.05.2020	59,69	359	26 (7,2)	35 (9,7)	128 (35,7)	170 (47,4)	

**Таблица 3.** Очаги COVID-19 в педиатрической популяции МО  
**Table 3.** COVID-19 clusters in the pediatric population of Moscow Region

Очаги COVID-19 COVID-19 clusters	Количество очагов Number of clusters		Количество детей Number of children	
	абс. / abs	%	абс. / abs	%
Всего очагов Total clusters	657	100	796	100
Очаги с одним случаем заболевания (ребенок — единственный заболевший в очаге) Single-case clusters (the child is the only case in the cluster)	113	17,3	113	14,2
Очаги с распространением инфекции, в том числе including	544	83,3	683	85,8
единственный заболевший ребенок в очаге the only sick child in the cluster	447	68,5	447	56,2
2 и более заболевших детей в очаге 2 or more sick children in the cluster	97	14,8	236	29,6

**Примечание.** Приведенные данные анализированы у детей с доступным эпидемиологическим анамнезом ( $n = 808$ ).  
**Note.** The presented data were analyzed in children with an available epidemiological history ( $n = 808$ ).

**Таблица 4.** Сила ( $\lambda$ ) и структура клинических форм COVID-19 в течение первых 4 нед подъема педиатрической заболеваемости в МО

**Table 4.** Force ( $\lambda$ ) and structure of the COVID-19 clinical forms during the four week increase in pediatric incidence in Moscow Region

Неделя мониторинга (даты) Monitoring week (dates)	Сила инфекции ( $\lambda$ ), ‰ Force of infection ( $\lambda$ ), ‰	Число случаев за неделю Number of cases per week	Клиническая структура COVID-19, абс. (%) Clinical structure of COVID-19, abs (%)			<i>p</i> (clinical structure)
			пневмония pneumonia	инфекции верхних дыхательных путей upper respiratory tract infection	бессимптомные формы asymptomatic forms	
06.04–12.04.2020	5,71	74	6 (8,1)	15 (20,3)	53 (71,6)	<0,01 df = 6
13.04–19.04.2020	18,46	190	16 (8,4)	44 (23,2)	130 (68,4)	
20.04–26.04.2020	35,58	255	24 (9,4)	61 (23,9)	170 (66,7)	
27.04–03.05.2020	59,69	359	42 (11,7)	125 (34,8)	192 (53,5)	

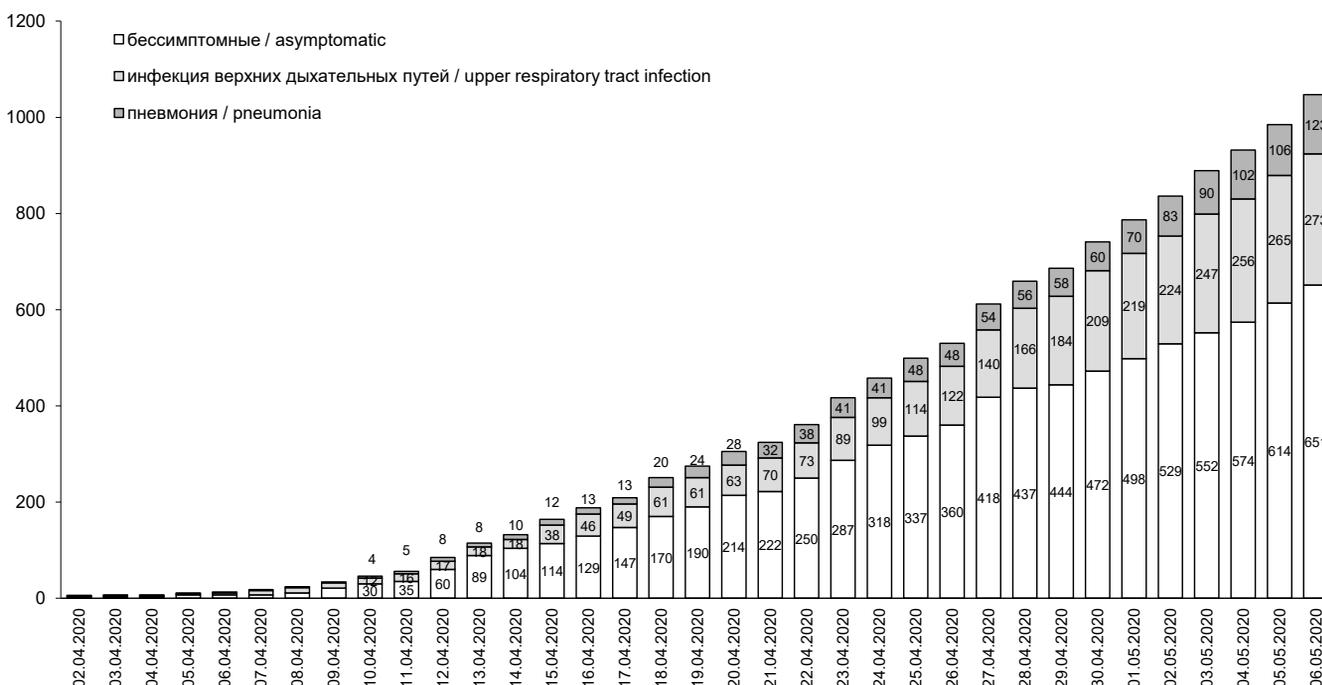
в 2 случаях дыхательная недостаточность I степени сопровождалась диффузным поражением легких (>75% площади легких на КТ), что послужило основанием для диагностики тяжелой формы заболевания. У большинства (73,1%) новорожденных подтверждена бессимптомная форма COVID-19, у 23,1% — легкая, у 1 младенца (3,8%) диагностирована пневмония.

В динамике развития эпидемической ситуации отмечено относительно пропорциональное увеличение числа клинических форм (рис. 3), однако

доля бессимптомных форм, оставаясь стабильной на протяжении 3 нед, на 4–5-й неделе мониторинга статистически уменьшилась по отношению к предыдущему периоду ( $p = 0,0014$ ; табл. 4), а доля легких форм — увеличилась ( $p = 0,005$ ). Удельный вес пневмонии статистически не менялся. Летальные исходы отсутствовали.

Возрастная и гендерная структура клинических форм COVID-19 представлена в табл. 5. Возраст половины заболевших пневмонией был старше 5 лет ( $p = 0,007$ ), а среди пациентов с легкой и

Абсолютное число случаев  
Absolute cases number



**Рис. 3.** Кумулятивный итог абсолютного числа клинических форм COVID-19 в педиатрической популяции МО на дату регистрации.

**Fig. 3.** The cumulative result of the absolute number of COVID-19 clinical forms in the pediatric population of Moscow Region by the date of reporting.

**Таблица 5.** Возрастная и гендерная структура клинических форм COVID-19 у детей в МО, абс. (%)**Table 5.** Age and gender structure of COVID-19 clinical forms in children in Moscow Region, abs (%)

Параметр Parameter	Пневмония Pneumonia (n = 123)	Инфекции верхних дыхательных путей Upper respiratory tract infection (n = 273)	Бессимптомные формы Asymptomatic forms (n = 651)	p (clinical structure)
Возраст, годы Age, years				<0,01 df=6
<1	11 (8,9)	23 (8,4)	42 (6,5)	
1–3	15 (12,2)	34 (12,4)	59 (9,1)	
3–10	30 (24,4)	113 (41,5)	255 (9,2)	
≥10	67 (54,5)	103 (41,5)	295 (45,3)	
Пол Gender				>0,05 df = 2
мальчики boys	62 (50,4)	153 (56,0)	342 (52,5)	
девочки girls	61 (49,5)	120 (44,0)	309 (47,5)	

бессимптомной формой преобладали дети старше 3 лет ( $p = 0,004$ ). Частота младенцев и детей раннего возраста, а также гендерная структура клинических форм COVID-19 не различались (см. табл. 5). Риск пневмонии у детей старше 10 лет был не выше, чем у детей другого возраста (отношение шансов 1,34; 95% ДИ 0,92–1,95).

Логично, что среди госпитализированных пациентов преобладали дети раннего возраста ( $p < 0,001$ ; табл. 6), причем девочек среди них было больше ( $p = 0,003$ ). Дети с COVID-19 госпитализировались не только по клиническим и эпидемиологическим показаниям, но и по социальным, когда необходимо было направить на стационарное

лечение всю семью. Доля пневмонии среди госпитализированных пациентов была весомой — 53 (42,1%) случая. Вместе с тем, несмотря на значительно меньший удельный вес пневмонии среди амбулаторно наблюдавшихся детей (7,9%), абсолютное число случаев оказалось не меньшим (73, или 57,9% от общего числа случаев).

### Обсуждение

Следует акцентировать внимание на следующих ключевых моментах, которые, вероятно, оказали влияние на полученные результаты.

1. Москва и МО — различные субъекты с максимальной численностью населения в России, тесно

**Таблица 6.** Возрастная и гендерная структура клинических форм COVID-19 у детей в МО, абс. (%)**Table 6.** Age and gender structure of COVID-19 clinical forms in children in the Moscow Region, abs (%)

Параметр Parameter	Госпитализированные Hospitalized (n = 126)	Амбулаторное наблюдение Outpatient (n = 921)	p (clinical structure)
Возраст, годы Age, years			<0,001 df = 3
<1	17 (13,5)	59 (6,4)	
1–3	19 (15,1)	89 (9,7)	
3–10	32 (25,4)	366 (39,7)	
≥10	58 (46,0)	407 (44,2)	
Пол Gender			0,036 df = 1
мальчики boys	56 (44,4)	501 (54,4)	
девочки girls	70 (55,6)	420 (45,6)	

взаимосвязаны. Многие жители МО трудоустроены в Москве, а многие москвичи регулярно выезжают в МО, имея здесь загородные дома и приусадебные участки. Коммуникация населения этих двух территорий максимально тесная. Поэтому, начавшись в Москве, эпидемический подъем COVID-19 быстро стал синхронным. На территории МО расположены московские аэропорты, что также важно, поскольку первые случаи COVID-19 были импортированы в МО из Европы и с Ближнего Востока.

2. Эпидемический подъем заболеваемости в Москве и МО начался позже, чем в Юго-Восточной Азии, на Ближнем Востоке, в Европе и США, что, теоретически, учитывая постоянное развитие SARS-CoV-2, могло повлиять на его сценарий [1–3].

3. Постановлением Главного санитарного врача<sup>8</sup> и Распоряжением Правительства РФ<sup>9</sup> была организована беспрецедентная по масштабу профилактическая работа, направленная на недопущение распространения инфекции, вызванной SARS-CoV-2, в России, включая широкое обследование лиц, приехавших из-за рубежа, контактных и других контингентов. С 28.03.2020 в Москве и МО был введен превентивный локдаун, причем ограничительные меры были едиными.

Биология вируса, который является новым для человеческой популяции, во многом определяет характеристики эпидемического процесса. Расчетный средний инкубационный период COVID-19 составляет 5,4 дня (4,1–7,0), 95% процентиль распределения — 12,5 дней (9,2–18,0) [14]. У детей инкубационный период может быть более длительным [15]. Средние сроки передачи инфекции в очагах несколько меньше — в среднем 4,6 дня (3,5–5,9) [11]. Пик инфицирования возникает до или во время появления симптомов у заболевшего, причем оказалось, что в 44–62% случаев вторичное инфицирование COVID-19 произошло на предсимптомной стадии заболевания источника заражения [11, 16, 17].

Малосимптомные или бессимптомные индивиды выделяют потенциально инфекционный вирус наравне с имеющими явную клинику и, по всей

вероятности, опасны в среднем за 2,5 дня до начала заболевания и в течение 5–11 дней после заражения или начала симптомов [18, 19]. По некоторым данным, своего пика вирусная нагрузка может достигать на 2-й неделе от начала болезни [20]. Подтверждена возможность длительного выделения вируса (30 дней и более) с зависимостью от клинического состояния пациента [20]. В настоящее время РНК вируса обнаружена у детей и взрослых не только в мазках из носа и ротоглотки и в мокроте, но и в крови, моче и фекалиях [19, 21, 22].

Вышесказанное иллюстрирует обширные возможности передачи новой инфекции в условиях высокой восприимчивости, включая очаги с бессимптомной инфекцией, что особенно важно для педиатрической практики, поскольку у детей социальные навыки еще недостаточно развиты. Настоящая работа оценила результаты широкого тестирования в очагах и демонстрирует приближенную к реальной эпидемиологическую ситуацию, что является одной из сильных сторон работы. Обнаруженные в настоящем исследовании четкая этапность эпидемического процесса и снижение заболеваемости через 2 нед после принятия строгих ограничительных мер были отмечены в Китае, где зарегистрирован старт пандемии. Интересно, что на фоне начала снижения заболеваемость детей продолжала увеличиваться [23].

Для большинства респираторных инфекций, включая грипп, репродуктивный индекс находится в диапазоне от 1 до 2 [24], что значительно ниже оцененного на фактических данных и рассчитанного в математических моделях для COVID-19. Первоначальные оценки ранней динамики вспышки в Ухане (Китай) предполагали удвоение числа случаев заражения людей в течение 6–7 дней с базовым репродуктивным числом ( $R_0$ ) в пределах от 2,24 (1,96–2,55) до 3,58 (2,89–4,39) [14, 25, 26]. Однако в реальных условиях время удвоения числа случаев составляло 2,3–3,3 дня со значением  $R_0$  5,7 (3,8–8,9) [25], что было подтверждено в Сингапуре и Корее [17, 27]. В европейских странах, где мероприятия по сдерживанию были направлены на локализацию распространения инфекции,  $R_0$  было значительно выше, достигая 6,3 [28], причем, в отличие от 1–2-й недели, на 3–5-й неделе прироста плотность населения играла существенную роль в распространении инфекции [29]. Косвенным подтверждением последнего может служить тот факт, что 8 территориальных образований МО (11,9%) с максимальной плотностью населения, окружающих Москву, к 8-й неделе эпидемического подъема обеспечили 43,2% общей заболеваемости среди детей.

Расчет индекса репродукции продемонстрировал, что развитие COVID-19 в педиатрической популяции в целом подчиняется тем же закономерностям. Начало экспоненциального распростране-

<sup>8</sup> Постановление Главного санитарного врача РФ от 31.01.2020 № 3 «О проведении дополнительных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по недопущению завоза и распространения новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV». URL: [https://www.rospotrebnadzor.ru/deyatelnost/epidemiological-surveillance/?ELEMENT\\_ID=13625](https://www.rospotrebnadzor.ru/deyatelnost/epidemiological-surveillance/?ELEMENT_ID=13625) (дата обращения 21.05.2020).

<sup>9</sup> Распоряжение Правительства РФ от 16.03.2020 № 635-р (ред. от 15.05.2020) «О временном ограничении въезда в Российскую Федерацию иностранных граждан и лиц без гражданства и временном приостановлении оформления и выдачи виз и приглашений». URL: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_347693](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347693) (дата обращения 21.05.2020).

ния ( $R = 3,8-4,8$ ) совпадало с началом вторичного заражения в семейных очагах, затем через 2 нед после локдауна наблюдалось замедление распространения ( $R = 2,6-2,9$ ). Действительно, более плоский характер кривой в Китае и Корею был достигнут быстрой изоляцией всех заболевших с использованием новых цифровых технологий для максимального отслеживания контактов в самом начале вспышки [30]. Следует отметить, что проведенный расчет может иметь смещение из-за значительно меньшего числа случаев COVID-19 в детской популяции. Тем не менее динамика зарегистрированных случаев была наглядной.

Представляется, что именно превентивный локдаун способствовал тому, что удалось избежать крупных очагов с множественными вторичными заражениями в детских медицинских и других организациях, а также учреждениях с круглосуточным уходом. Математическое моделирование свидетельствует, что именно низкий уровень изменения поведения может привести к крупномасштабной передаче SARS-CoV-2 на душу населения [31, 32].

Анализ подтвердил четкую очаговость COVID-19, которая была отмечена ранее [15, 33]. Вместе с тем частота очагов с вторичным распространением среди детей составила 83,3% при низком уровне инфицирования (0,07%), что значительно выше ранее представленных данных (11% со значительно более высоким уровнем инфицирования детей 7,4%) [33]. Это, по-видимому, объясняется активным выявлением случаев с учетом максимально возможных контактов, тестированием не только заболевших, но и бессимптомных лиц. Кроме того, удалось выявить 17,2% очагов с первичным случаем заболевания у ребенка, что может быть аргументом для проведения тестирования в случае низкого уровня социального восприятия карантинных мер в обществе, особенно учитывая, что SARS-CoV-2 является новым и сильно заразен. Значение семейных очагов в распространении инфекции подчеркивается тем, что не менее половины пациентов инфицированы на предсимптомной стадии индексных случаев в условиях карантинных мер вне дома [16].

В целом анализ подтвердил, что восприимчивость к COVID-19 детей ниже, чем взрослых, а также то, что дыхательная недостаточность и летальные исходы при этом заболевании являются редкими событиями [5, 6, 15]. Инфицированность детского населения МО была выше, чем в Италии [34], и примерно на таком же уровне, как в США [35].

Обнаружена низкая частота пневмонии (11,7%), в том числе у новорожденных, что гораздо ниже результатов систематического обзора I. Liguoro и соавт. [6] — 29 и 48% соответственно. С одной стороны, это может быть свидетельством некоторого числа упущенных случаев, поскольку описаны рентгенологические изменения в каче-

стве случайной находки у детей с легкой формой заболевания или даже бессимптомных [6], с другой стороны — быть результатом широкого тестирования. Сами авторы отмечают, что дети меньше тестируются по сравнению со взрослыми. Данные по МО отражают одинаковый подход к обследованию детей и взрослых. Доказательством более легкого течения COVID-19 у детей также может быть низкий уровень госпитализации и ее структура с достаточно большой долей легких форм у детей раннего возраста.

Следует отметить, что на последних неделях мониторинга в МО отмечено увеличение симптоматических форм COVID-19. Представляется, что в данной временной точке полученный факт может свидетельствовать о некотором снижении контроля ситуации и должен быть учтен в дальнейшей практической работе.

Ограничением проведенного анализа является применение нескольких тест-систем для диагностики COVID-19 с разной чувствительностью. Тем не менее зафиксировать начальные этапы можно достаточно точно в связи с повторным тестированием образцов в референс-центре Роспотребнадзора России. Безусловно, на расчетные педиатрические показатели оказывала влияние инфицированность и заболеваемость взрослых, а общее развитие COVID-19 не было прослежено. Несмотря на это, надо полагать, что выявленные тенденции были достаточно определенными и могут отражать результаты принятых в России и МО превентивных мер. Видимо, эти меры отодвинули начало эпидемического подъема заболеваемости COVID-19 и замедлили ее распространение.

## Выводы

1. На примере анализа 1047 случаев COVID-19 в условиях раннего внедрения превентивного локдауна и широкого тестирования отмечается четкая этапность эпидемического подъема педиатрической заболеваемости COVID-19. Экспоненциальный рост, связанный с вторичными случаями заражения в семейных очагах, продолжался 2 нед и затем замедлился, хотя число зарегистрированных случаев продолжало расти. Более высокая заболеваемость детей отмечена в территориальных образованиях МО, прилегающих к Москве и с высокой плотностью населения.
2. Средний индекс репродукции составил 3,8 (3,0–4,57).
3. Коэффициент очаговости COVID-19 среди детей был высоким — 82,8% (79,7–85,6) — с небольшим средним числом выявленных случаев в очаге — 1,21 (1,16–1,26), который ограничивался размерами семейного очага.
4. Рано предпринятые меры, направленные на нераспространение COVID-19, позволили избе-

жать крупных очагов с множественными вторичными заражениями детей.

5. Значительно преобладали бессимптомные формы COVID-19 — 62,2% (59,2–65,1), в том числе у новорожденных — 73,1%, с низкой частотой тяжелых форм — 0,38% (0,35–0,41) и низким индексом госпитализации — 12,0 (10,1–14,2). Летальность отсутствовала.
6. Средний возраст заболевших и инфицированных детей — 8 [4; 13] лет. Мальчики преобладали незначительно — 53,2%.
7. Учитывая сохраняющийся высокий репродуктивный индекс и вероятное увеличение инфицированности детей на фоне стабилизации, необходимо продлевать меры, направленные на локализацию COVID-19. В случае низкого уровня социального восприятия карантинных мер в обществе широкое тестирование детей может повысить выявляемость дополнительных очагов COVID-19.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storicci P., et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 179. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12967-020-02344-6>
2. Bajaj A., Purohit H.J. Understanding SARS-CoV-2: genetic diversity, transmission and cure in human. *Indian J. Microbiol.* 2020; 1-4. DOI: <http://doi.org/10.1007/s12088-020-00869-4>
3. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in Coronavirus Disease 2019 patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa203. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa203>
4. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(17): 9241-3. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
5. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1088-95. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15270>
6. Liguoro I., Pilotto C., Bonanni M., Ferrari M.E., Pusiolo A., Nocerino A., et al. SARS-COV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur. J. Pediatr.* 2020; 1-18. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00431-020-03684-7>
7. Morand A., Fabre A., Minodier P., Boutin A., Vanel N., Bosdure E., et al. COVID-19 virus and children: What do we know? *Arch. Pediatr.* 2020; 27(3): 117-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.arcped.2020.03.001>
8. Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1082-3. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15271>
9. Dong Y., Mo X., Hu Y., Qi X., Jiang F., Jiang Z. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics.* 2020; 145(6): e20200702. DOI: <http://doi.org/10.1542/peds.2020-0702>
10. Keeling M.J., Rohani P. *Modelling Infectious Diseases in Humans and Animals.* Princeton, NJ: Princeton University Press; 2008.
11. Nishiura H., Linton N.M., Akhmetzhanov A.R. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 93: 284-6. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.060>
12. Андерсон Р.М., Мэй Р.М. *Инфекционные болезни человека: динамика и контроль.* Пер. с англ. М.: Мир, Научный мир; 2004.
13. Слободенюк А.В., Косова А.А., Ан Р.Н. *Эпидемиологический анализ: Учебное пособие.* Екатеринбург; 2015.
14. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13): 1199-207. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
15. She J., Liu L., Liu W. COVID-19 epidemic: Disease characteristics in children. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.25807. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25807>
16. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X., et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(5): 672-5. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
17. Ganyani T., Kremer C., Chen D., Torneri A., Faes C., Wallinga J., et al. Estimating the generation interval for coronavirus disease (COVID-19) based on symptom onset data, March 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(17): 2000257. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.S.2020.25.17.2000257>
18. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(12): 1177-9. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMc2001737>
19. Pan Y., Zhang D., Yang P., Poon L.L.M., Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 411-2. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
20. Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January – March 2020: retrospective cohort study. *BMJ.* 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
21. Yu F., Yan L., Wang N., Yang S., Wang L., Tang Y., et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa345. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa345>
22. Yuan C., Zhu H., Yang Y., Cai X., Xiang F., Wu H., et al. Viral loads in throat and anal swabs in children infected with SARS-CoV-2. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 1-17. DOI: <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1771219>
23. Pan A., Liu L., Wang C., Guo H., Hao X., Wang Q., et al. Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; 323(19): 1-9. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.6130>
24. Cope R.C., Ross J.V., Chilver M., Stocks N.P., Mitchell L. Characterising seasonal influenza epidemiology using primary care surveillance data. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(8): e1006377. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006377>
25. Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
26. Zhao S., Lin Q., Ran J., Musa S.S., Yang G., Wang W., et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 92: 214-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>
27. Choi S., Ki M. Estimating the reproductive number and the outbreak size of COVID-19 in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020011. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020011>
28. Yuan J., Li M., Lv G., Lu Z.K. Monitoring transmissibility and mortality of COVID-19 in Europe. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 95: 311-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.050>

29. Karadag E. Increase in Covid-19 cases and case fatality and case recovery rates in Europe: a cross temporal meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.26035. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.26035>
  30. Shodan H., Wilder-Smith A., Osman S., Farooq Z., Rocklöv J. Only strict quarantine measures can curb the coronavirus disease (COVID-19) outbreak in Italy, 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(13): 2000280. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.13.2000280>
  31. Kim S., Seo Y.B., Jung E. Prediction of COVID-19 transmission dynamics using a mathematical model considering behavior changes in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020026. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020026>
  32. Тамм М.В. Коронавирусная инфекция в Москве: прогнозы и сценарии. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13(1): 43-51. DOI: <http://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51>
  33. Bi Q., Wu Y., Mei S., Ye C., Zou X., Zhang Z., et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; S1473-3099(20)30287-5. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30287-5](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5)
  34. Livingston E., Bucher K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA.* 2020; 10.1001/jama.2020.4344. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.4344>
  35. CDC COVID-19 Response Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – United States, February 12 – March 16, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(12): 343-6. DOI: <http://doi.org/10.15585/mmwr.mm6912e2>
- REFERENCES
1. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storicci P., et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 179. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12967-020-02344-6>
  2. Bajaj A., Purohit H.J. Understanding SARS-CoV-2: genetic diversity, transmission and cure in human. *Indian J. Microbiol.* 2020; 1-4. DOI: <http://doi.org/10.1007/s12088-020-00869-4>
  3. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in Coronavirus Disease 2019 patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa203. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa203>
  4. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(17): 9241-3. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
  5. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1088-95. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15270>
  6. Liguoro I., Pilotto C., Bonanni M., Ferrari M.E., Pusioli A., Nocerino A., et al. SARS-CoV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur. J. Pediatr.* 2020; 1-18. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00431-020-03684-7>
  7. Morand A., Fabre A., Minodier P., Boutin A., Vanel N., Bosdure E., et al. COVID-19 virus and children: What do we know? *Arch. Pediatr.* 2020; 27(3): 117-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.arcped.2020.03.001>
  8. Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1082-3. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15271>
  9. Dong Y., Mo X., Hu Y., Qi X., Jiang F., Jiang Z. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics.* 2020; 145(6): e20200702. DOI: <http://doi.org/10.1542/peds.2020-0702>
  10. Keeling M.J., Rohani P. *Modelling Infectious Diseases in Humans and Animals.* Princeton, NJ: Princeton University Press; 2008.
  11. Nishiura H., Linton N.M., Akhmetzhanov A.R. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 93: 284-6. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.060>
  12. Anderson R.M., May R.M. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control.* Oxford: Oxford University Press; 1991.
  13. Slobodenyuk A.V., Kosova A.A., An R.N. *Epidemiological Analysis: A Training Manual [Epidemiologicheskii analiz: Uchebnoe posobie.]*. Ekaterinburg; 2015. (in Russian)
  14. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13): 1199-207. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
  15. She J., Liu L., Liu W. COVID-19 epidemic: Disease characteristics in children. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.25807. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25807>
  16. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X., et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(5): 672-5. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
  17. Ganyani T., Kremer C., Chen D., Torneri A., Faes C., Wallinga J., et al. Estimating the generation interval for coronavirus disease (COVID-19) based on symptom onset data, March 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(17): 2000257. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.17.2000257>
  18. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(12): 1177-9. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMc2001737>
  19. Pan Y., Zhang D., Yang P., Poon L.L.M., Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 411-2. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
  20. Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January – March 2020: retrospective cohort study. *BMJ.* 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
  21. Yu F., Yan L., Wang N., Yang S., Wang L., Tang Y., et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa345. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa345>
  22. Yuan C., Zhu H., Yang Y., Cai X., Xiang F., Wu H., et al. Viral loads in throat and anal swabs in children infected with SARS-CoV-2. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 1-17. DOI: <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1771219>
  23. Pan A., Liu L., Wang C., Guo H., Hao X., Wang Q., et al. Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; 323(19): 1-9. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.6130>
  24. Cope R.C., Ross J.V., Chilver M., Stocks N.P., Mitchell L. Characterising seasonal influenza epidemiology using primary care surveillance data. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(8): e1006377. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006377>
  25. Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
  26. Zhao S., Lin Q., Ran J., Musa S.S., Yang G., Wang W., et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int. J.*

- Infect. Dis.* 2020; 92: 214-7.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>
27. Choi S., Ki M. Estimating the reproductive number and the outbreak size of COVID-19 in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020011.  
DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020011>
  28. Yuan J., Li M., Lv G., Lu Z.K. Monitoring transmissibility and mortality of COVID-19 in Europe. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 95: 311-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.050>
  29. Karadag E. Increase in Covid-19 cases and case fatality and case recovery rates in Europe: a cross temporal meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.26035.  
DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.26035>
  30. Shodan H., Wilder-Smith A., Osman S., Farooq Z., Rocklöv J. Only strict quarantine measures can curb the coronavirus disease (COVID-19) outbreak in Italy, 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(13): 2000280.  
DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.13.2000280>
  31. Kim S., Seo Y.B., Jung E. Prediction of COVID-19 transmission dynamics using a mathematical model considering behavior changes in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020026.  
DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020026>
  32. Tamm M.V. COVID-19 in Moscow: prognoses and scenarios. *Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya.* 2020; 13(1): 43-51.  
DOI: <http://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51> (in Russian)
  33. Bi Q., Wu Y., Mei S., Ye C., Zou X., Zhang Z., et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; S1473-3099(20)30287-5.  
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30287-5](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5)
  34. Livingston E., Bucher K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA.* 2020; 10.1001/jama.2020.4344.  
DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.4344>
  35. CDC COVID-19 Response Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – United States, February 12 – March 16, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(12): 343-6.  
DOI: <http://doi.org/10.15585/mmwr.mm6912e2>

**Информация об авторе:**

Мескина Елена Руслановна<sup>✉</sup> — д.м.н., зав. отд. детских инфекций отдела терапии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>.  
E-mail: [meskinaelena@rambler.ru](mailto:meskinaelena@rambler.ru)

**Information about the author:**

Elena R. Meskina<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med.), Head, Children's infectious disease department, M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, 129110, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>.  
E-mail: [meskinaelena@rambler.ru](mailto:meskinaelena@rambler.ru)

## ORIGINAL RESEARCHES

© Meskina E.R., 2020



## Preliminary Clinical and Epidemiological Analysis of the First 1,000 Pediatric COVID-19 Cases in Moscow Region

Elena R. Meskina<sup>✉</sup>

M.F. Vladimirov Moscow Regional Research and Clinical Institute, 129110, Moscow, Russian Federation

**Rationale.** The novel coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 (COVID-19) continues to spread worldwide, though the epidemiological situation varies across countries. It is of interest to estimate the pediatric incidence in a separate constituent entity of the Russian Federation, Moscow Region (MR) closely connected with Moscow (accounting for the highest number of COVID-19 cases in Russia). Assessment of the epidemiological data is interesting due to the late onset of the epidemic outbreak, the preventive lockdown imposed during the early stages, and extensive testing of all the identified contacts.

**Purpose** of the study: Assessment of the pediatric incidence of COVID-19, including identification of its main clinical and epidemiological characteristics, based on the monitoring data for the current situation in MR.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of all pediatric cases of laboratory-confirmed COVID-19 in MR (1,047 children of all ages) was performed. The time span covered the data of the daily monitoring of the epidemiological situation from the beginning of reporting (53 days in total). The information was obtained from the database of the Rospotrebnadzor Territorial Administration of MR and collected in compliance with the regulations on Daily Monitoring of Children with Coronavirus Infection, Management Section, State Information System, MR.

**Results.** The pediatric cases of COVID-19 accounted for 6.3% (95% CI<sup>1</sup> 5.9–6.7) of all the cases reported by 6/5/2020 (16,590); the total infection rate of the pediatric population in the region was 0.07% (0.06–0.09). The basic reproduction number ranged from 4.8 (during the two-week exponential growth phase) to 2.7 (during the later period characterized by a slowdown in the incidence rate) and averaged 3.8 (3.0–4.57). The clustering rate of COVID-19 among children was high, reaching 82.8% (79.7–85.6) with a small average number of cases detected in the cluster — 1.21 (1.16–1.26). Asymptomatic COVID-19 cases prevailed significantly, amounting to 62.2% (59.2–65.1), including 73.1% in newborns; severe cases accounted for 0.38% (0.35–0.41) and hospitalized cases totaled 12.0 (10.1–14.2). No death cases were reported. The mean age of the diseased and infected was 8 [4; 13] years old. Boys prevailed insignificantly (53.2%).

**Conclusion.** There is a distinct stage-by-stage development of the epidemic situation among children in MR. In the pediatric population, COVID-19 was generally acquired from a secondary household transmission within family clusters. Early preventive measures and extensive testing helped to reduce the period of exponential growth and, therefore, to avoid large clusters of infection. In addition, 17.2% of the COVID-19 clusters were identified as those where the child was the first to become sick. In the future, it is necessary to practice distancing and provide effective isolation of diseased children and adults, since the high rate of incidence in children can lag behind the incidence rate in adults.

**Keywords:** children; coronavirus infection; SARS-CoV-2; COVID-19 epidemiology; epidemiological analysis.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The author declares no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Meskina E.R. Preliminary clinical and epidemiological analysis of the first 1,000 pediatric COVID-19 cases in Moscow Region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 202–215.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-2>

Received 20 May 2020

Accepted 25 May 2020

## Предварительный клинико-эпидемиологический анализ первых 1000 случаев COVID-19 у детей в Московской области

Мескина Е.Р. <sup>✉</sup>

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, Российская Федерация

<sup>1</sup> Hereinafter parentheses contain a 95% confidence interval.

**Актуальность.** Новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2 (COVID-19), продолжает распространяться по миру, однако эпидемиологическая ситуация отличается в разных странах. Представляет интерес оценить педиатрическую заболеваемость в отдельном субъекте России — Московской области (МО), тесно взаимосвязанной с Москвой (где зарегистрировано максимальное количество случаев COVID-19 в России). Оценка эпидемиологических данных интересна в связи с поздним началом эпидемического подъема, внедрением на ранних этапах превентивного локдауна, широким тестированием всех выявленных контактных лиц.

**Цель работы** — оценить педиатрическую заболеваемость COVID-19 с определением ее ведущих клинико-эпидемиологических характеристик на материалах официального мониторинга за текущей ситуацией в МО.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ всех педиатрических случаев лабораторно подтвержденной COVID-19 в МО (1047 детей всех возрастов) с момента начала регистрации в порядке ежедневного мониторинга за эпидемиологической ситуацией (суммарно в течение 53 дней). Информация извлечена из базы данных Территориального управления Роспотребнадзора МО и собрана в рамках свода по форме «Ежедневный мониторинг детей с коронавирусной инфекцией», приложение ГАС «Управление» МО.

**Результаты.** Доля педиатрических случаев COVID-19 среди всех зарегистрированных на 06.05.2020 (16 590) составила 6,3% (95% ДИ 5,9–6,7), общая инфицированность педиатрической популяции субъекта — 0,07% (0,06–0,09). Средний индекс репродукции колебался в пределах от 4,8 (на этапе двухнедельного экспоненциального роста) до 2,7 (в последующем периоде более медленного прироста заболеваемости) и составил в среднем 3,8 (3,0–4,57). Коэффициент очаговости COVID-19 среди детей был высоким — 82,8% (79,7–85,6) с небольшим средним числом выявленных случаев в очаге — 1,21 (1,16–1,26). Значительно преобладали бессимптомные формы COVID-19 — 62,2% (59,2–65,1), в том числе у новорожденных — 73,1%, с низкой частотой тяжелых форм — 0,38% (0,35–0,41) и низким индексом госпитализации — 12,0 (10,1–14,2). Летальность отсутствовала. Средний возраст заболевших и инфицированных — 8 [4; 13] лет. Мальчики преобладали незначительно (53,2%).

**Выводы.** Прослеживается отчетливая этапность развития эпидемической ситуации среди детей в МО. Передача COVID-19 в детской популяции осуществлялась главным образом в семейных очагах с вторичным распространением. Благодаря ранним превентивным мерам и широкому тестированию период экспоненциального роста был коротким, удалось избежать крупных очагов инфекции, дополнительно выявлено 17,2% очагов COVID-19, в которых первым заболевшим был ребенок. Необходимо в дальнейшем соблюдать дистанцирование и обеспечивать эффективную изоляцию заболевших детей и взрослых, поскольку вероятность высокой педиатрической заболеваемости может запаздывать по сравнению со взрослыми.

**Ключевые слова:** дети; коронавирусная инфекция; SARS-CoV-2; эпидемиология COVID-19; эпидемиологический анализ.

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

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

**Для цитирования:** Мескина Е.Р. Предварительный клинико-эпидемиологический анализ первых 1000 случаев COVID-19 у детей в Московской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(3): 202–215.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-2>

Поступила 20.05.2020

Принята в печать 25.05.2020

## Rationale

The pandemic caused by a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome (SARS-CoV-2) is rapidly spreading, with many countries reporting exponential growth. Over a little more than four months, the pandemic overwhelmed the most resilient health systems; it is exacting a huge toll on individuals, communities and societies across the world by bringing social and economic life to a near stop<sup>2</sup>. At the same time, it triggered an unprecedented increase in the number of scientific studies addressing various aspects of the problem, from studies on the SARS-CoV-2 genome, epidemiological and clinical characteristics of

the disease (COVID-19) to development of effective therapeutics and vaccines. New scientific information becomes accessible extremely rapidly, thus dynamically changing the response to the epidemiological situation and contributing to upgrading measures aimed at suppression of the SARS-CoV-2 spread.

The epidemiological curves demonstrating the COVID-19 dynamics in different countries can capture geographical differences<sup>3</sup> caused by a number of factors (external and internal transport communication, the size of a country and the density of population, geographical locations, the type and the swiftness of adopting critical

<sup>2</sup> WHO. COVID-19 Strategy Update. 14/4/2020. URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/strategies-plans-and-operations> (reference date 20/5/2020).

<sup>3</sup> Geographic distribution of COVID-19. European Centre for Disease Prevention and Control. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases> (reference date 20/5/2020).

restrictive measures, use of personal protective equipment and the level of social responsibility of population). Furthermore, the reported number of COVID-19 cases directly depends on the testing criteria specified by the national pandemic response programs. In Russia, testing is extensive and is performed not only on individuals who came recently from other countries and on patients displaying symptoms that may be associated with COVID-19, but also on exposed individuals in disease clusters, healthcare workers, people older than 65 years old, children and adults from boarding facilities, if any respiratory symptoms are present<sup>4</sup>. This approach enhances the accuracy of the assessment of the epidemiological situation, which can be different from those reported by other countries due to a wide-scale registration of mild and asymptomatic forms of infection.

At present, SARS-CoV-2 is developing outside Southeast Asia that was first to hit by the pandemic. Region-specific European, North American and Asian strains co-exist [1]. The virus is replicated inside the host and evolves in different countries during epidemic transmission; the observed mutation frequency, strain variability, and genetic selection produce a complex clinical scenario [1–3]. Some scholars believe that at the moment there are three main genomic variants that can modulate the clinical presentation and epidemiology of the disease [4]. The assessment of the epidemiological status of Russia, which was hit by the spread of SARS-CoV-2 later than Europe or the United States and which imposed a preventive lockdown at an early stage, can significantly contribute to the global profile of the pandemic.

Epidemiological studies on COVID-19 incidence in the pediatric population are of high importance, as the lower susceptibility of children as compared to adults is one of the distinctive and unclear features of the SARS-CoV-2 pandemic. The systematic reviews of J.F. Ludvigsson (45 publications) [5] and the "latest" work by I. Liguoro et al. (65 publications) [6] clearly demonstrated the lower frequency of cases, the milder form of the disease and extremely rare fatal outcomes. In this way, COVID-19 is markedly different from other respiratory infections, including infections caused by other coronaviruses. The discussion of causes of these phenomena is based on assumptions. Some of them are as follows: Children have a qualitatively different immune response to SARS-CoV-2 as compared to adults; competition with other respiratory viruses; differences in the expression of the angiotensin-converting enzyme-2 receptor required for binding SARS-Cov2 and

infection; pharmaceuticals used by adults and blocking angiotensin receptors in treatment of hypertension [7, 8]. It should be noted that the observations generally cover a small number of pediatric cases. The most noteworthy work by Y. Dong et al. [9] covered more than 2,135 cases; most of them had disease symptoms, though only 728 of them had laboratory-confirmed COVID-19, while 1,407 patients were suspect cases.

Thus, results of the clinical and epidemiological analysis of large cohorts of children and extensive testing for COVID-19 will be able to give better insights into children incidence. There is another factor enhancing the significance of such analysis. Moscow Region (MR) is an individual constituent entity of the Russian Federation; it borders Moscow that reported the largest number of COVID-19 cases in Russia<sup>5</sup>. MR ranks second in Russia in total population, yielding only to Moscow, though having much lower density of population. Close economic, social and cultural ties as well as the integrated transportation system suggest risks of spreading the novel coronavirus infection in the region.

The above said defines the significance of the performed study.

**The purpose** of the study is to assess pediatric incidence of COVID-19 and identify its main clinical and epidemiological characteristics based on the data obtained from the official monitoring of the current situation in MR.

## Materials and methods

A retrospective analysis was performed for all the pediatric cases of confirmed COVID-19 in MR; the analyzed data covered the time span from the beginning of the registration and captured the daily monitored (from 2/4/2020) epidemiological situation as of 6/5/2020. The information about patients (age, sex, residence, reasons for examination and its date, clinical form of the disease) was retrieved from the database of the Rospotrebnadzor Territorial Administration of MR. The data on the disease severity, duration of hospitalization or outpatient observation were collected and consolidated in compliance with the regulations on Daily Monitoring of Children with Coronavirus Infection, Management Section of the State Information System, MR. The cases were recorded on the date of their reporting (the date when the data on the positive test for COVID-19 were received).

To diagnose COVID-19 the MR accredited laboratories used different test systems registered in Russia: PCR testing with hybridization-fluorescence detection by using the Vector-PCRRv-2019-nCoV-RG test system (Vector State Research Center of Virology and Biotechnology, Novosibirsk, Koltsovo), PCR testing

<sup>4</sup> Methodological Guidelines MR 3.1.0170-20. Epidemiology and Prevention of COVID-19 (read with MR 3.1.0175-20, Amendment No. 1 in MR 3.1.0170-20, Epidemiology and Prevention of COVID-19, approved by Rospotrebnadzor on 30/4/2020). URL: [https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/070/metod\\_recomend\\_3.1.0170\\_20\\_v\\_1.pdf](https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/070/metod_recomend_3.1.0170_20_v_1.pdf) (reference date 20/5/2020).

<sup>5</sup> Official website of the Ministry of Health, COVID-19 in Russia. URL: <https://covid19.rosminzdrav.ru> (reference date 20.05.2020).

with hybridization-fluorescence detection by using the Vector-OneStep PRC-CoV-RG» (Vector State Research Center of Virology and Biotechnology, Novosibirsk, Koltsovo), the RealBest RNA SARS-CoV-2 assay kit based on real-time RT-PCR (Vector-Best JSC), the real-time RT-PCR based SARS-CoV-2/SARS-CoV test kit (DNA-Technology LLC, Moscow), PCR testing with hybridization-fluorescence detection by using the AmpliSens® Cov-Bat-FL (Central Research Institute of Epidemiology, Moscow). During the first 3 weeks, positive and equivocal biological samples were retested at the Vector State Research Center of Virology and Biotechnology in Novosibirsk.

No ethical review was performed, as the information about the patients was provided in a standard referral for the COVID-19 test and was required for monitoring of the epidemiological situation for taking organizational measures (if applicable).

The statistical processing of the data was performed by using a Statistica 6.0 software package (Stat Soft Inc., USA). Qualitative variables are given as the mean value  $\pm$  standard error ( $\sigma$ ) or as a median value (Me) of the lower and upper quartiles. Discrete variables are given as an event rate expressed as a percentage (%) or percent mille ( $\text{‰}$ ) of the total number of patients. The  $\chi^2$  criterion was used to compare two groups by their qualitative variables; several groups were compared at the same time by using the  $\chi^2$  criterion for random tables. The differences at  $p < 0.05$  were deemed statistically significant. If any statistical difference was found, the further pairwise comparison of the groups was performed by using Yates' correction. To ensure high-quality estimation of the difference value, the 95% confidence interval for mean values and proportions as well as odds ratios were calculated.

The rates characterizing an epidemic process were analyzed. The reproduction rate (R, the basic reproduction number) of an infection [10] was calculated by assuming that the duration of a COVID-19 incubation and contagious period is approximately 4 days [11]. As the prerequisite, it was agreed that the infection in the population was maintained, if  $R > 1$ , otherwise the average number of secondary cases of infection, which are caused by one infected individual in the population of susceptible residents, must be more than 1. The force of infection ( $\lambda$ ) was seen as an infection incidence for the susceptibles per unit time [12]. The infection rate for the pediatric population (%) was calculated as the number of confirmed COVID-19 cases per the total number of children under 18 in MR; the hospitalization rate was calculated as a proportion (%) of the number of hospitalized cases in the total number of the detected cases. The clustering was estimated as the ratio (%) of the number of detected cases to the number of infection clusters; the clustering rate represented a proportion (%) of clusters with secondary transmission as compared to the total number of clusters; the clustering index was

calculated as the average number of cases in one cluster [13]. The clustering was estimated only among children. The entire children population was deemed susceptible, considering that the infection caused by SARS-CoV-2 is novel for the human population.

## Results

By 6/5/2020, MR had reported 1,047 pediatric cases of COVID-19 varying in severity, 6.3% of the total incidence (16,590 cases<sup>6</sup>, **Table 1**). The cumulative infection rate of the children population was rather low during that period (Table 1).

The first pediatric cases of COVID-19 were detected in the middle of March 2020 in 3 teenagers who visited Europe.

We can single out three stages in the epidemic outbreak, which are characterized by clearly defined time intervals:

- *the first stage* — from onset to 2/4/2020, when only a few cases (11 people) were reported among those who visited Europe and the United Arab Emirates (8 cases, including a 9-month-old baby) or who were in close contact with someone who came from another country (3 people);
- *the second stage* — 2 weeks of exponential growth in case incidence ( $R = 3.85\text{--}4.77$ ) when the number of cases doubled on average within 2–3 days;
- *the third stage* — a longer period that did not end by the time of the study and was characterized by a slowdown in the intensity of infection; the absolute increase in the infected cases is expressed by a broken curve ( $R = 2.92\text{--}2.69$ ; **Fig. 1**).

Within the review period, the infection reproduction rate ranged from 4.77 to 2.69, and the basic reproduction number was 3.8 (95% CI 3.0–4.57). Rare cases COVID-19 associated with travel exposures and close contacts with travelers were reported before 15/4/2020; however, starting from 2/4/2020 there was an increase in disease cases among children due to a secondary spread of infection in family clusters, accounting for most cases in the pediatric population of MR.

At the time-point of the conducted analysis, COVID-19 cases were reported in 55 (82.1%) urban and municipal districts of MR. However, 43.2% of the total incidence among children was contributed by 8 (11.9%) territorial units surrounding Moscow.

The average age of the infected was 8 [4; 13] years old; the age structure showed that children older than 3 years old accounted for most cases. The age composition of those included in the study was as follows: children of 1 year of age — 7.3% (76), including new-

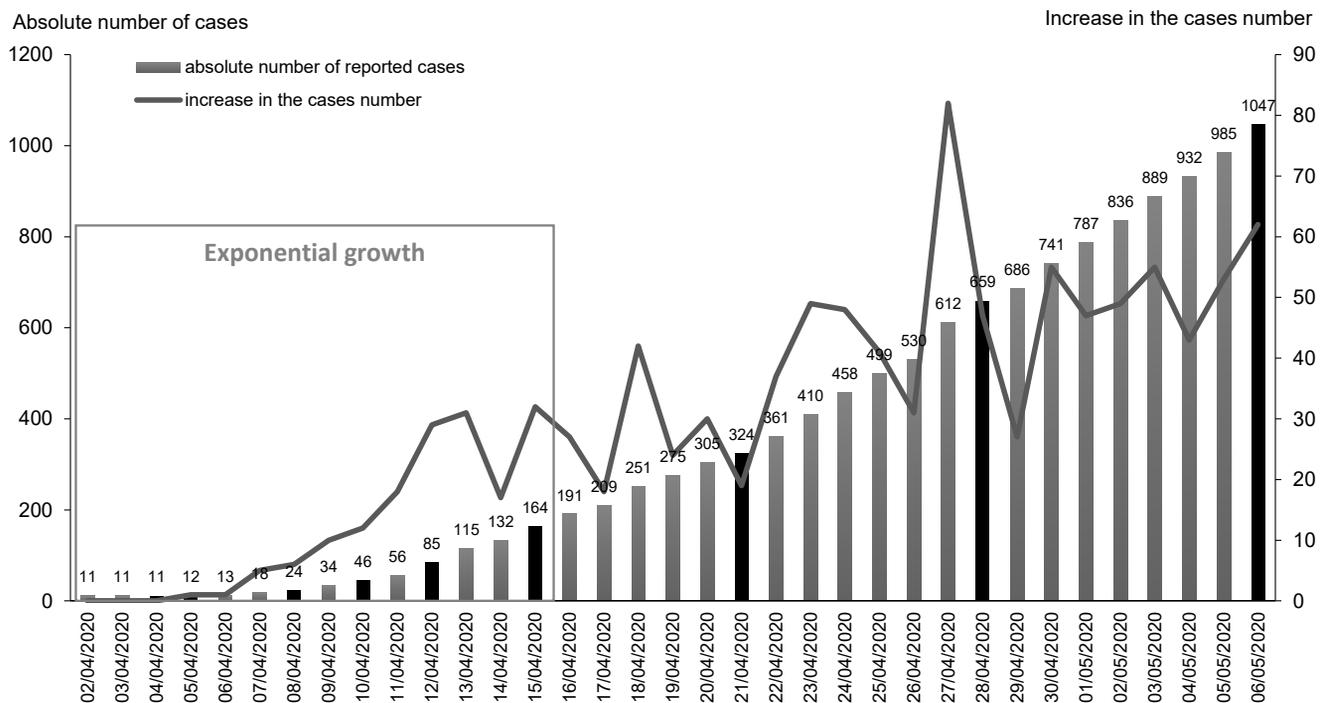
<sup>6</sup> The official website of the Ministry of Health, COVID-19 in Russia. URL: <https://covid19.rosminzdrav.ru> (reference date 20/5/2020).

**Table 1.** The main epidemiological criteria for the epidemic situation of COVID-19 in the pediatric population of Moscow Region by May 6, 2020

Indicator	Indicator value	95% CI
The proportion of pediatric cases in the total number of reported cases, %	6,3	5,9–6,7
Pediatric infection, %	0,07	0,06–0,09
Incidence in children, April, 2020, $\text{‰}_{0000}$	52,0	50,9–53,1
Reproduction number, $M \pm \sigma$	$3,8 \pm 0,91$	3,0–4,6
Clustering, %	121,2	97,7–149,2
Focal rate, %	82,8	79,7–85,6
Clustering index, $M \pm \sigma$	$1,21 \pm 0,61$	1,16–1,26
Mean age, Me [lower; upper quartile]	8 [4; 13]	8,13–8,77
Hospitalization rate, %	12,0	10,1–14,2
Severe forms, %	0,38	0,35–0,41
Asymptomatic forms, %	62,2	59,2–65,1
Pneumonia, %	11,7	9,8–13,8
Upper respiratory tract infection, %	26,1	23,4–28,9
Mortality	0	–

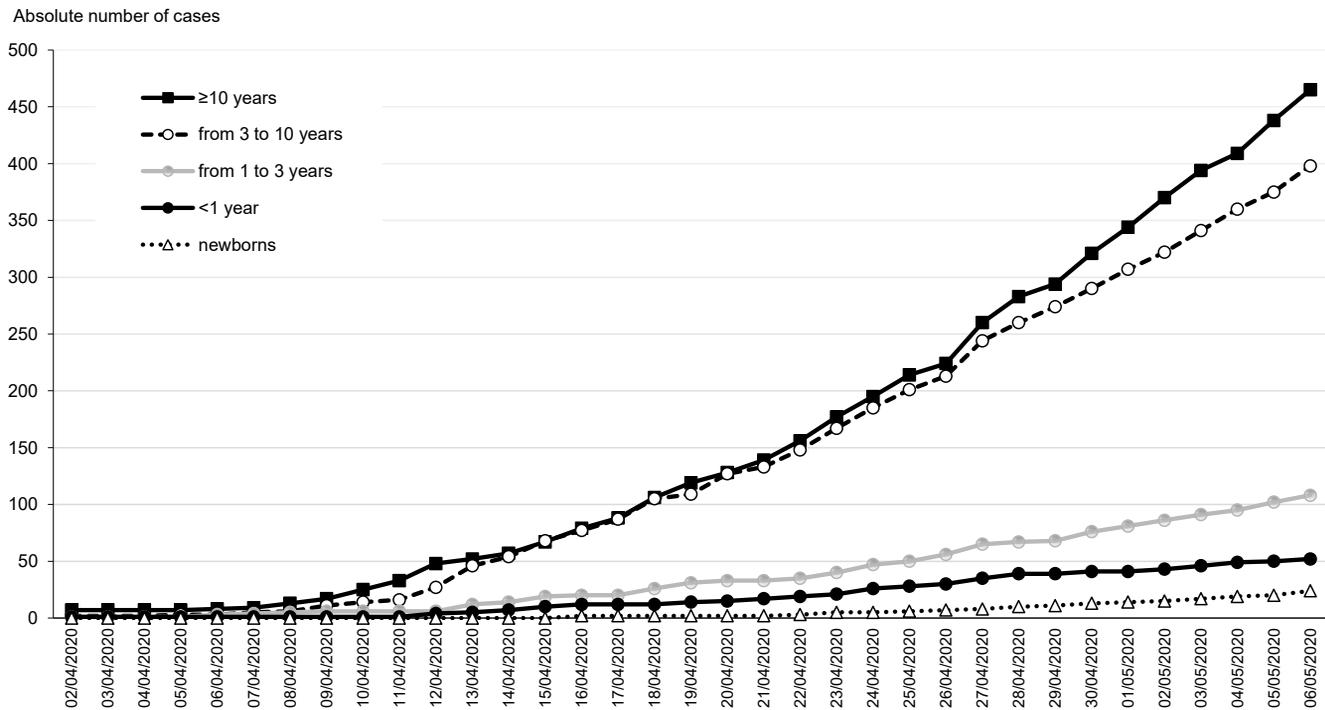
borns — 2.5% (26); infants — 10.3% (108); 3–10 year-olds — 38.0% (398), adolescents — 44.4% (465). Except for one baby who was with his parents on vacation in the UAE, new cases of COVID-19 among children under one year of age were reported by the end of the 4<sup>th</sup> week of the monitoring, while the first cases among newborns were reported even later, by the end of the 5<sup>th</sup>

week (**Fig. 2**). As can be seen in Fig. 2, the incidence among infants and newborns lagged far behind the incidence among children older than 3 years old, the gap increased with the further developing of the epidemic situation, though the age structure of COVID-19 remained statistically unchanged during the monitoring (**Fig. 2**; **Table 2**). In the gender distribution, the per-



**Fig. 1.** The cumulative total of the absolute number and increase in COVID-19 cases in the pediatric population of Moscow Region.

Black bars indicate the doubling in the number of COVID-19 cases.



**Fig. 2.** Cumulative result of the absolute number of COVID-19 cases among children of different age in Moscow Region by the date of reporting.

centage of boys was insignificantly higher, amounting to 53.2% (girls accounted for 46.8%).

The epidemiological history was available for the analysis in 808 children. It shows a clear clustering nature of COVID-19 (**Table 3**). The maximum number of COVID-19 cases were detected in family clusters — 665 (82.3%). Other exposures were observed much more rarely: 12 children (1.5%) visited other countries, 3 children (0.4%) had a close contact with travelers, 4 children (0.5%) were exposed at healthcare facilities, 11 children (1.4%) had close contacts with other people. 42 children (5.2%) were examined due to the presence of symptoms of respiratory infection, and 71 children (8.8%) were examined for pneumonia.

As can be seen in Tables 1 and 3, clusters of COVID-19 transmission prevailed in MR during the development of the epidemic outbreak, though the clustering index was low. Among the detected clusters,

there were those with one case of children infection, which can be explained by the cluster sizes. In multi-child families, all the children were often infected; the largest number of the diseased was 8 people. There were no large clusters with multiple secondary infections in children healthcare facilities and other organizations as well as in day-and-night care facilities. The extensive examination of children displaying symptoms of acute respiratory infection and pneumonia, which did not exclude the COVID-19 infection, made it possible to detect another 17.2% of infection clusters.

In clinical forms of COVID-19, asymptomatic cases prevailed significantly (62.2%; **Table 4**). The incidence of pneumonia was low — 11.7%. Only 4 teenagers older than 12 years old were diagnosed with a severe form of pneumonia; only 1 patient needed invasive mechanical ventilation. In 2 patients, the acute respiratory distress syndrome of Type I was accompanied

**Table 2.** Force ( $\lambda$ ) and COVID-19 age structure during the four week increase in pediatric incidence in Moscow Region

Monitoring week (dates)	Force of infection ( $\lambda$ ), $\%_{0000}$	Number of cases per week	Age structure of COVID-19, abs (%)				p (age structure)
			<1 year	from 1 to 3 years old	from 3 to 10 years old	$\geq 10$ years old	
06.04–12.04.2020	5,71	74	4 (5,4)	4 (5,4)	25 (33,8)	41 (55,1)	>0,05 df = 9
13.04–19.04.2020	18,46	190	12 (6,3)	25 (13,2)	82 (43,2)	71 (37,4)	
20.04–26.04.2020	35,58	255	21 (8,2)	25 (9,8)	104 (40,8)	105 (41,2)	
27.04–03.05.2020	59,69	359	26 (7,2)	35 (9,7)	128 (35,7)	170 (47,4)	

**Table 3.** COVID-19 clusters in the pediatric population of Moscow Region

COVID-19 clusters	Number of clusters		Number of children	
	abs	%	abs	%
Total clusters	657	100	796	100
Single-case clusters (the child is the only case in the cluster)	113	17,3	113	14,2
Clusters with the infection transmission, including	544	83,3	683	85,8
the only sick child in the cluster	447	68,5	447	56,2
2 or more sick children in the cluster	97	14,8	236	29,6

**Note.** The presented data were analyzed in children with an available epidemiological history ( $n = 808$ ).

**Table 4.** Force ( $\lambda$ ) and structure of the COVID-19 clinical forms during the four week increase in pediatric incidence in Moscow Region

Monitoring week (dates)	Force of infection ( $\lambda$ ), ‰	Number of cases per week	Clinical structure of COVID-19, abs (%)			$p$ (clinical structure)
			pneumonia	upper respiratory tract infection	asymptomatic forms	
06.04–12.04.2020	5,71	74	6 (8,1)	15 (20,3)	53 (71,6)	<0,01 df = 6
13.04–19.04.2020	18,46	190	16 (8,4)	44 (23,2)	130 (68,4)	
20.04–26.04.2020	35,58	255	24 (9,4)	61 (23,9)	170 (66,7)	
27.04–03.05.2020	59,69	359	42 (11,7)	125 (34,8)	192 (53,5)	

by diffuse alveolar damage in the lungs (>75% lung involvement on CT imaging), thus being the reason for diagnosis of a severe form of the disease. Most (73.1%) of the newborns had a confirmed asymptomatic form of COVID-19; 23.1% had a mild form; 1 newborn (3.8%) was diagnosed with pneumonia.

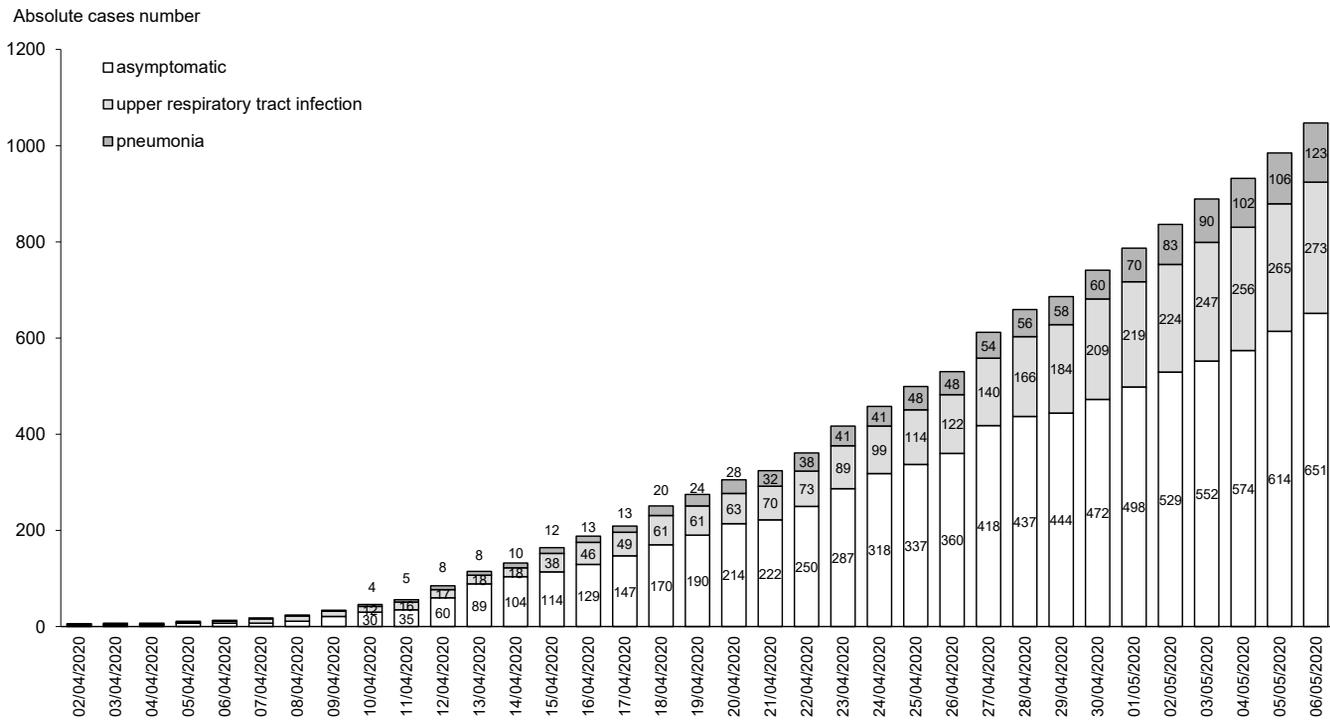
The dynamics of the epidemic situation shows a relatively proportional increase in the number of clinical forms (**Fig. 3**), while the proportion of asymptomatic forms, after remaining stable during 3 weeks, statistically decreased during the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> weeks of the monitoring as compared to the previous period ( $p = 0.0014$ ;

Table 4), and the proportion of mild forms increased ( $p = 0,005$ ). The proportion of pneumonia cases remained statistically unchanged. Fatal outcomes were absent.

The age and gender structure of COVID-19 clinical forms is shown in **Table 5**. Half of the pneumonia patients were older than 5 years old ( $p = 0.007$ ); mild and asymptomatic forms were most common in children older than 3 years old ( $p = 0.004$ ). The rate of clinical cases in newborns and infants as well as the gender structure of COVID-19 clinical forms did not show any differences (Table 5). The risk of developing

**Table 5.** Age and gender structure of COVID-19 clinical forms in children in Moscow Region, abs (%)

Parameter	Pneumonia ( $n = 123$ )	Upper respiratory tract infection ( $n = 273$ )	Asymptomatic forms ( $n = 651$ )	$p$ (clinical structure)
Age, years				<0,01 df=6
<1	11 (8,9)	23 (8,4)	42 (6,5)	
1–3	15 (12,2)	34 (12,4)	59 (9,1)	
3–10	30 (24,4)	113 (41,5)	255 (9,2)	
≥10	67 (54,5)	103 (41,5)	295 (45,3)	
Gender				>0,05 df = 2
boys	62 (50,4)	153 (56,0)	342 (52,5)	
girls	61 (49,5)	120 (44,0)	309 (47,5)	



**Fig. 3.** The cumulative result of the absolute number of COVID-19 clinical forms in the pediatric population of Moscow Region by the date of reporting.

pneumonia in children older than 10 years old was as high as that one in children of another age (the odds ratio was 1.34; 95% CI 0.92–1.95).

Logical enough, infants accounted for most of the hospitalized patients ( $p < 0.001$ ; Table 6), with girls prevailing ( $p = 0.003$ ). Children with COVID-19 were hospitalized not only for clinical and epidemiological reasons, but also based on social grounds, when the whole family had to be hospitalized. The proportion of pneumonia cases among the hospitalized patients was substantial — 53 (42.1%) cases. At the same time, although outpatient children made up a considerably low proportion of pneumonia (7.9%), the absolute number of cases was also high (73 or 57.9% of the total cases).

## Discussion

The emphasis should be put on the following key factors that may have affected the obtained results.

1. Moscow and MR are different entities having maximum population in Russia and closely interconnected. Many MR residents are employed in Moscow, while many Moscow citizens go regularly to MR to their country houses and allotments. The communication between these two territories is extremely close. Therefore, having started in Moscow, the COVID-19 epidemic outbreak started synchronously gathering pace. The MR territory hosts Moscow airports, which is also important, as the first COVID-19 cases were imported to MR from Europe and the Middle East.

**Table 6.** Age and gender structure of COVID-19 clinical forms in children in the Moscow Region, abs (%)

Parameter	Hospitalized ( $n = 126$ )	Outpatient ( $n = 921$ )	$p$ (clinical structure)
Age, years			<0,001 df = 3
<1	17 (13,5)	59 (6,4)	
1–3	19 (15,1)	89 (9,7)	
3–10	32 (25,4)	366 (39,7)	
≥10	58 (46,0)	407 (44,2)	
Gender			0,036 df = 1
boys	56 (44,4)	501 (54,4)	
girls	70 (55,6)	420 (45,6)	

2. The epidemic increase in the incidence in Moscow and MR began later than in Southeast Asia, the Middle East, Europe and the United States, and, hypothetically, considering continuously evolving SARS-CoV-2, could have an impact on its scenario [1–3].

3. The Ordinance of the Chief Sanitary Inspector<sup>7</sup> and the Decree of the RF Government<sup>8</sup> were issued to organize and implement measures unprecedented in their scale and aimed at prevention of any spread of infection caused by SARS-CoV-2, including extensive examination of people who came from other countries, contact persons and other groups of population. The preventive lockdown was imposed in Moscow and MR on 28/3/2020, and the restrictive measures were uniform.

The biology of the virus, which is new for the human population, contributes significantly to the pattern of the epidemic process. The estimated median incubation period of COVID-19 is 5.4 days (4.1–7.0), the 95<sup>th</sup> percentile of distribution — 12.5 days (9.2–18.0) [14]. In children, the incubation period can last longer [15]. The mean time of infection transmission in clusters is slightly shorter — averaging 4.6 days (3.5–5.9) [11]. The peak of infection takes place before or during occurrence of symptoms in a patient; it turned out that 44–62% of the secondary COVID-19 cases were infected during the pre-symptom stage of the disease of the infection source [11, 16, 17].

Like clinically apparent cases, pauci-symptomatic and asymptomatic individuals shed a potentially infectious virus and, most likely, pose a threat generally 2.5 days before the beginning of the disease and during 5–11 days after being infected or after starting to manifest symptoms [18, 19]. Some data show that the peak viral load can be reached during the 2<sup>nd</sup> week from the onset of the disease [20]. It has been confirmed that the virus shedding can last for a long time (30 days and longer), depending on the patient's clinical condition [20]. At present, the viral RNA has been detected in children and adults, not only in nasal, deep throat swabs or sputum samples, but also in blood, urine and feces [19, 21, 22].

The above said demonstrates that the novel infection can be easily transmitted in a highly susceptible environment, including clusters with asymptomatic

infection, the latter being especially important in pediatric practices, as children do not have sufficiently developed social skills. Among strong points of the conducted study is the evaluation of the results of extensive testing in clusters and demonstration of a highly realistic epidemiological situation. This study revealed a distinct stage-by-stage pattern of the epidemic process and the decrease in the incidence 2 weeks after strict restrictive measures had been adopted; the same findings were reported by China where the local outbreak spiraled into the pandemic. Note that the incidence among children continued to increase when the decrease in the total number of cases was reported [23].

For most of the respiratory infections, including influenza, the reproduction number ranges from 1 to 2 [24], thus being much lower than the number estimated for COVID-19 by using actual data and mathematical models. The initial estimates of the early dynamic of the outbreak in Wuhan (China) suggested the doubling in the time of infection during 6–7 days, with the basic reproduction number ( $R_0$ ) ranging from 2.24 (1.96–2.55) to 3.58 (2.89–4.39) [14, 25, 26]. However, in real life, the time of doubling in the number of cases was 2.3–3.3 days at  $R_0$  5.7 (3.8–8.9) [25], and the same was observed in Singapore and Korea [17, 27]. In European countries where control measures were aimed at localization of the infection spread,  $R_0$  was much higher and reached 6.3 [28]; in contrast to the 1<sup>st</sup> and 2<sup>ns</sup> weeks, during the 3<sup>rd</sup>–5<sup>th</sup> week of the increase, the density of population played a significant role in the spread of infection [29]. The indirect evidence of the latter is the fact that 8 units of MR (11.9%) surrounding Moscow and characterized by the highest density of population accounted for 43.2% of the total incidence among children by the 8<sup>th</sup> week of the epidemic upsurge.

The estimation of the reproduction number demonstrated that COVID-19 develops in the pediatric population in conformity with the same laws. The beginning of the exponential spread ( $R = 3.8–4.8$ ) coincided with the beginning of the secondary infection in family clusters; then, 2 weeks after the lockdown, the spread started slowing down ( $R = 2.6–2.9$ ). Indeed, in China and Korea, a flatter curve was reached through rapid isolation of all the diseased, along with the using of advanced digital technologies to trace the maximum number of contacts at onset of the outbreak [30]. It should be noted that the performed estimation may need correction because of the significantly lower number of COVID-19 cases in the children population. Yet, the dynamics of the reported cases was very noticeable.

It can be assumed that it was the preventive lockdown that helped avoid large clusters with multiple secondary infections in children healthcare facilities and other organizations as well as in day-and-night care facilities. Mathematical modeling proves that the low level of changes in the behavior can lead to a large-scale SARS-CoV-2 transmission per capita [31, 32].

<sup>7</sup> The Ordinance of the Chief Sanitary Inspector, adopted on 31/1/2020, No. 3 On Additional Sanitary and Epidemiological (Preventive) Measures Aimed at Prevention of Importation and Spread of the Novel Coronavirus Infection Caused by 2019-nCoV. URL: [https://www.rosпотребнадзор.ru/deyatelnost/epidemiological-surveillance/?ELEMENT\\_ID=13625](https://www.rosпотребнадзор.ru/deyatelnost/epidemiological-surveillance/?ELEMENT_ID=13625) (reference date 21/5/2020).

<sup>8</sup> The Decree of the RF Government, adopted on 16/3/2020, No. 635-r (revised on 15/5/2020) On Temporary Restrictions of Entry to the Russian Federation for Foreign Citizens and Stateless Persons, and Temporary Suspension of Issuing Visas and Invitations. URL: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_347693](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347693) (reference date 21/5/2020).

The analysis confirmed the distinct cluster pattern of COVID-19, which was mentioned previously [15, 33]. At the same time, the frequency of clusters with secondary transmission among children amounted to 83.3% at the low rate of infection (0.07%), which is significantly higher than the data reported earlier (11% at the much higher rate of infection among children – 7.4%) [33]. It can be explained by the active detection of cases, including all the possible contacts, as well as by testing not only the diseased, but also asymptomatic individuals. In addition, 17.2% of the clusters were detected; all of them had a child as the primary case, thus evidencing the necessity of tests if society tends to be socially irresponsible in its perception of the quarantine measures, especially taking into account that SARS-CoV-2 is a novel and highly contagious virus. The role of family clusters in the spread of infection is emphasized by the fact that nearly half of the patients were infected during the pre-symptom stage of index cases outside their household when the quarantine measure were put into effect [16].

On the whole, the analysis confirmed that children are less susceptible to COVID-19 than adults and that respiratory distress and fatal outcomes are rare for this disease [5, 6, 15]. The infection rate among the children population of MR was higher than the rate observed in Italy [34], and was approximately the same as the rate in the USA [35].

The frequency of pneumonia cases was low (11.7%), including pneumonia in newborns, thus being much lower than the levels reported by I. Liguoro et al. [6] — 29 and 48%, respectively. On the one hand, it may evidence a certain number of missed cases, as the described radiologic abnormalities were accidentally found in children with a mild form of the disease or even in asymptomatic cases [6]; on the other hand, it could result from extensive testing. The authors note that children are tested less frequently than adults. MR has the similar approach to examination of children and adults, and this approach is integral to data collection. Mild forms of COVID-19 in children can also be proved by the low rate of hospitalization and by a large proportion of mild forms in infants.

It should be pointed out that the last weeks of monitoring in MR demonstrated an increase in symptomatic forms of COVID-19. It may be assumed that at this time-point the above fact can evidence certain weakening of the control over the situation and should be taken into consideration in further practical work.

The performed analysis has some limitations due to differences in the sensitivity of several test systems used for diagnosis of COVID-19. Nevertheless, the first stages can be captured fairly accurately thanks to the repeat testing of samples at the reference center of Rosпотребнадзор of Russia. Undoubtedly, the pediatric estimates were affected by the infection and incidence rates in adults, while the general development of COVID-19

was not monitored. Nevertheless, we can assume that the trends were quite accurately identified and can represent the results of the preventive measures adopted in Russia and MR. Apparently, these measures delayed the beginning of the increase in COVID-19 incidence and slowed down its spread.

## Conclusion

1. The analysis of 1,047 COVID-19 cases during the early imposed preventive lockdown and extensive testing demonstrated a distinct stage-by-stage pattern of the epidemic increase in the pediatric incidence of COVID-19. The period of exponential growth associated with secondary cases of infection in family clusters lasted 2 weeks and then slowed down, though the number of reported cases kept growing. The higher incidence rate among children was observed in the MR territorial units neighboring Moscow and characterized by a high density of population.
2. The basic reproduction number was 3.8 (3.0–4.57).
3. The clustering rate of COVID-19 among children was high and amounted to 82.8% (79.7–85.6), though the average number of the detected cases in clusters was quite low — 1.21 (1.16–1.26), being limited by the size of a family cluster.
4. The early measures aimed at prevention of the COVID-19 spread helped avoid large clusters with multiple secondary infections of children.
5. Asymptomatic forms of COVID-19 prevailed significantly, totaling 62.2% (59.2–65.1), including 73.1% in newborns; severe cases accounted only for 0.38% (0.35–0.41) and hospitalized cases accounted for 12.0 (10.1–14.2). No death cases were reported.
6. The mean age of the diseased and infected children was 8 [4; 13] years old. Boys prevailed insignificantly, accounting for 53.2%.
7. Taking into account the persistent high reproduction number and the likelihood of the increased infection rate among children amid the ongoing stabilization, it is important to maintain the measures aimed at localization of COVID-19. Extensive testing of children can increase the detectability of additional COVID-19 clusters, especially if society does not show high social responsibility in its perception of the quarantine measures.

## REFERENCES

1. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storici P., et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 179. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12967-020-02344-6>
2. Bajaj A., Purohit H.J. Understanding SARS-CoV-2: genetic diversity, transmission and cure in human. *Indian J. Microbiol.* 2020; 1-4. DOI: <http://doi.org/10.1007/s12088-020-00869-4>
3. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in Coronavirus Disease 2019 patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa203. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa203>

4. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(17): 9241-3. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
5. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1088-95. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15270>
6. Liguoro I., Pilotto C., Bonanni M., Ferrari M.E., Pusiolo A., Nocerino A., et al. SARS-CoV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur. J. Pediatr.* 2020; 1-18. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00431-020-03684-7>
7. Morand A., Fabre A., Minodier P., Boutin A., Vanel N., Bosdure E., et al. COVID-19 virus and children: What do we know? *Arch. Pediatr.* 2020; 27(3): 117-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.arcped.2020.03.001>
8. Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1082-3. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15271>
9. Dong Y., Mo X., Hu Y., Qi X., Jiang F., Jiang Z. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics.* 2020; 145(6): e20200702. DOI: <http://doi.org/10.1542/peds.2020-0702>
10. Keeling M.J., Rohani P. *Modelling Infectious Diseases in Humans and Animals.* Princeton, NJ: Princeton University Press; 2008.
11. Nishiura H., Linton N.M., Akhmetzhanov A.R. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 93: 284-6. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.060>
12. Anderson R.M., May R.M. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control.* Oxford: Oxford University Press; 1991.
13. Slobodenyuk A.V., Kosova A.A., An R.N. *Epidemiological Analysis: A Training Manual [Epidemiologicheskij analiz: Uchebnoe posobie.]* Ekaterinburg; 2015. (in Russian)
14. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13): 1199-207. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
15. She J., Liu L., Liu W. COVID-19 epidemic: Disease characteristics in children. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.25807. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25807>
16. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X., et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(5): 672-5. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
17. Ganyani T., Kremer C., Chen D., Torneri A., Faes C., Wallinga J., et al. Estimating the generation interval for coronavirus disease (COVID-19) based on symptom onset data, March 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(17): 2000257. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.S.2020.25.17.2000257>
18. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(12): 1177-9. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMc2001737>
19. Pan Y., Zhang D., Yang P., Poon L.L.M., Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 411-2. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
20. Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January – March 2020: retrospective cohort study. *BMJ.* 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
21. Yu F., Yan L., Wang N., Yang S., Wang L., Tang Y., et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa345. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa345>
22. Yuan C., Zhu H., Yang Y., Cai X., Xiang F., Wu H., et al. Viral loads in throat and anal swabs in children infected with SARS-CoV-2. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 1-17. DOI: <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1771219>
23. Pan A., Liu L., Wang C., Guo H., Hao X., Wang Q., et al. Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; 323(19): 1-9. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.6130>
24. Cope R.C., Ross J.V., Chilver M., Stocks N.P., Mitchell L. Characterising seasonal influenza epidemiology using primary care surveillance data. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(8): e1006377. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006377>
25. Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
26. Zhao S., Lin Q., Ran J., Musa S.S., Yang G., Wang W., et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 92: 214-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>
27. Choi S., Ki M. Estimating the reproductive number and the outbreak size of COVID-19 in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020011. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020011>
28. Yuan J., Li M., Lv G., Lu Z.K. Monitoring transmissibility and mortality of COVID-19 in Europe. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 95: 311-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.050>
29. Karadag E. Increase in Covid-19 cases and case fatality and case recovery rates in Europe: a cross temporal meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.26035. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.26035>
30. Shodan H., Wilder-Smith A., Osman S., Farooq Z., Rocklöv J. Only strict quarantine measures can curb the coronavirus disease (COVID-19) outbreak in Italy, 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(13): 2000280. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.13.2000280>
31. Kim S., Seo Y.B., Jung E. Prediction of COVID-19 transmission dynamics using a mathematical model considering behavior changes in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020026. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020026>
32. Tamm M.V. COVID-19 in Moscow: prognoses and scenarios. *Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya.* 2020; 13(1): 43-51. DOI: <http://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51> (in Russian)
33. Bi Q., Wu Y., Mei S., Ye C., Zou X., Zhang Z., et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; S1473-3099(20)30287-5. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30287-5](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5)
34. Livingston E., Bucher K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA.* 2020; 10.1001/jama.2020.4344. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.4344>
35. CDC COVID-19 Response Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – United States, February 12 – March 16, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(12): 343-6. DOI: <http://doi.org/10.15585/mmwr.mm6912e2>

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Stori P., et al. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1): 179. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12967-020-02344-6>
2. Bajaj A., Purohit H.J. Understanding SARS-CoV-2: genetic diversity, transmission and cure in human. *Indian J. Microbiol.* 2020; 1-4. DOI: <http://doi.org/10.1007/s12088-020-00869-4>
3. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in Coronavirus Disease 2019 patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa203. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa203>

4. Forster P, Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(17): 9241-3. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
5. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1088-95. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15270>
6. Liguoro I., Pilotto C., Bonanni M., Ferrari M.E., Pusiolo A., Nocerino A., et al. SARS-COV-2 infection in children and newborns: a systematic review. *Eur. J. Pediatr.* 2020; 1-18. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00431-020-03684-7>
7. Morand A., Fabre A., Minodier P., Boutin A., Vanel N., Bosdure E., et al. COVID-19 virus and children: What do we know? *Arch. Pediatr.* 2020; 27(3): 117-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.arcped.2020.03.001>
8. Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* 2020; 109(6): 1082-3. DOI: <http://doi.org/10.1111/apa.15271>
9. Dong Y., Mo X., Hu Y., Qi X., Jiang F., Jiang Z. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics.* 2020; 145(6): e20200702. DOI: <http://doi.org/10.1542/peds.2020-0702>
10. Keeling M.J., Rohani P. *Modelling Infectious Diseases in Humans and Animals.* Princeton, NJ: Princeton University Press; 2008.
11. Nishiura H., Linton N.M., Akhmetzhanov A.R. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 93: 284-6. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.02.060>
12. Андерсон Р.М., Мэй Р.М. *Инфекционные болезни человека: динамика и контроль.* Пер. с англ. М.: Мир, Научный мир; 2004.
13. Слободенюк А.В., Косова А.А., Ан Р.Н. *Эпидемиологический анализ: Учебное пособие.* Екатеринбург; 2015.
14. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13): 1199-207. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
15. She J., Liu L., Liu W. COVID-19 epidemic: Disease characteristics in children. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.25807. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25807>
16. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X., et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 2020; 26(5): 672-5. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>
17. Ganyani T., Kremer C., Chen D., Torneri A., Faes C., Wallinga J., et al. Estimating the generation interval for coronavirus disease (COVID-19) based on symptom onset data, March 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(17): 2000257. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.S.2020.25.17.2000257>
18. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(12): 1177-9. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMc2001737>
19. Pan Y., Zhang D., Yang P., Poon L.L.M., Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* 2020; 20(4): 411-2. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4)
20. Zheng S., Fan J., Yu F., Feng B., Lou B., Zou Q., et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January – March 2020: retrospective cohort study. *BMJ.* 2020; 369: m1443. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.m1443>
21. Yu F., Yan L., Wang N., Yang S., Wang L., Tang Y., et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa345. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciaa345>
22. Yuan C., Zhu H., Yang Y., Cai X., Xiang F., Wu H., et al. Viral loads in throat and anal swabs in children infected with SARS-CoV-2. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 1-17. DOI: <http://doi.org/10.1080/22221751.2020.1771219>
23. Pan A., Liu L., Wang C., Guo H., Hao X., Wang Q., et al. Association of public health interventions with the epidemiology of the COVID-19 outbreak in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; 323(19): 1-9. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.6130>
24. Cope R.C., Ross J.V., Chilver M., Stocks N.P., Mitchell L. Characterising seasonal influenza epidemiology using primary care surveillance data. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(8): e1006377. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006377>
25. Sanche S., Lin Y.T., Xu C., Romero-Severson E., Hengartner N., Ke R. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(7): 10.3201/eid2607.200282. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2607.200282>
26. Zhao S., Lin Q., Ran J., Musa S.S., Yang G., Wang W., et al. Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 92: 214-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>
27. Choi S., Ki M. Estimating the reproductive number and the outbreak size of COVID-19 in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020011. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020011>
28. Yuan J., Li M., Lv G., Lu Z.K. Monitoring transmissibility and mortality of COVID-19 in Europe. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 95: 311-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.050>
29. Karadag E. Increase in Covid-19 cases and case fatality and case recovery rates in Europe: a cross temporal meta-analysis. *J. Med. Virol.* 2020; 10.1002/jmv.26035. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.26035>
30. Shodan H., Wilder-Smith A., Osman S., Farooq Z., Rocklöv J. Only strict quarantine measures can curb the coronavirus disease (COVID-19) outbreak in Italy, 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25(13): 2000280. DOI: <http://doi.org/10.2807/1560-7917.S.2020.25.13.2000280>
31. Kim S., Seo Y.B., Jung E. Prediction of COVID-19 transmission dynamics using a mathematical model considering behavior changes in Korea. *Epidemiol. Health.* 2020; 42: e2020026. DOI: <http://doi.org/10.4178/epih.e2020026>
32. Тамм М.В. Коронавирусная инфекция в Москве: прогнозы и сценарии. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13(1): 43-51. DOI: <http://doi.org/10.17749/2070-4909.2020.13.1.43-51>
33. Bi Q., Wu Y., Mei S., Ye C., Zou X., Zhang Z., et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2020; S1473-3099(20)30287-5. DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30287-5](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30287-5)
34. Livingston E., Bucher K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Italy. *JAMA.* 2020; 10.1001/jama.2020.4344. DOI: <http://doi.org/10.1001/jama.2020.4344>
35. CDC COVID-19 Response Team. Severe outcomes among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) – United States, February 12 – March 16, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(12): 343-6. DOI: <http://doi.org/10.15585/mmwr.mm6912e2>

**Information about the author:**

**Elena R. Meskina** — Д. Sci. (Med.), Head, Children's infectious disease department, M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, 129110, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>.  
E-mail: [meskinaelena@rambler.ru](mailto:meskinaelena@rambler.ru)

**Информация об авторе:**

**Мескина Елена Руслановна** — д.м.н., зав. отд. детских инфекций отдела терапии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, 129110, Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1960-6868>.  
E-mail: [meskinaelena@rambler.ru](mailto:meskinaelena@rambler.ru)



## Тетрануклеотидный профиль герпесвирусных ДНК

Филатов Ф.П.<sup>1,2✉</sup>, Шаргунов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия

**Введение.** Герпесвирусные ДНК (около 90% всех полногеномных последовательностей семейства *Herpesvirales*, представленных в GenBank) содержат в минимальной концентрации один из двух тетрануклеотидов — CTAG или TCGA. «Недопредставленность» CTAG ранее наблюдалась только в ДНК некоторых бактерий и фагов. Ранее выявленная «недопредставленность» метилируемого димера CpG находит свое выражение в низкой концентрации TCAG в ДНК герпесвирусов.

**Цель работы** — продолжение анализа формальных характеристик герпесвирусных ДНК, а также сопоставление их с плотностью ДНК-микргомологий вирус/хозяин и с геномной макроструктурой герпесвирусов.

**Материалы и методы.** Проанализированы по 20 штаммов и изолятов каждого из пяти типов вирусов герпеса человека (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 штаммов HHV8, 5 штаммов HHV6A, 4 штамма HHV6B и 3 штамма HHV7. Для определения частоты тетрануклеотидов использовали инструменты GenBank, а для сравнения — фрагменты ДНК человека размером с ДНК герпесвирусов.

**Результаты.** Минимальная концентрация CTAG в ДНК герпесвирусов в основном характерна для двух- и односегментных геномов с прямыми или инвертированными концевыми повторами (классов А, D и E), тогда как минимальная плотность TCGA — главным образом для значительно менее структурированной ДНК (классов В, С и F). По нарастанию плотности CTAG геномы герпесвирусов человека образуют последовательность, близкую к последовательности 20 нт-гомологий ДНК герпесвирус/человек, организованной по нарастанию плотности, что также коррелирует с макроструктурой ДНК. Параллель этой минимизации со структурой ДНК вирусов герпеса или с их принадлежностью к тому или иному подсемейству в литературе не отмечена. Хотя герпесвирусные ДНК довольно велики (125–295 Кб), некоторые из них (например, ДНК HHV4, HHV5 и HHV7) демонстрируют заметные отклонения от второго правила четности ДНК и, таким образом, могут служить компонентом вирусных молекулярных сигнатур.

В **Обсуждении** предлагаются возможные гипотезы происхождения некоторых из отмеченных явлений.

**Ключевые слова:** герпесвирусная ДНК; тетрануклеотидный профиль; «недопредставленность» CTAG/TCGA; второе правило четности ДНК.

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

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

**Для цитирования:** Филатов Ф.П., Шаргунов А.В. Тетрануклеотидный профиль герпесвирусных ДНК.

*Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(3): 216–226.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-3>

Поступила 22.04.2020

Принята в печать 25.05.2020

## Tetranucleotide Profile of Herpesvirus DNA

Felix P. Filatov<sup>1,2✉</sup>, Alexander V. Shargunov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia

**Introduction.** Herpesvirus DNAs (about 90% of the total genomic sequences of the *Herpesvirales* family presented in GenBank) contain at a minimum concentration one of the two tetranucleotides, CTAG or TCGA. The “underrepresentation” of CTAG was previously observed only in the DNA of some bacteria and phages. The **aim** of the study was the further analysis of the formal characteristics of herpesvirus DNA, as well as their comparison with the density of the virus/host DNA microhomology and with the genomic macrostructure of herpes viruses.

**Materials and methods.** Twenty strains and isolates of each of the five types of human herpes viruses (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 strains of HHV8, 5 strains of HHV6A, 4 strains of HHV6B and 3 strains of HHV7 were analyzed. GenBank tools were used to determine the frequency of tetranucleotides, and human DNA fragments with size matched herpesvirus DNA were used for comparison.

**Results.** Minimum CTAG concentration in DNA of herpes viruses is mainly characteristic of two- and single-segment genomes with direct or inverted terminal repeats (classes A,D,E), while the minimum TCGA density is characteristic mainly for DNA that is significantly less structured (classes B,C,F). By increasing CTAG density, human herpes viruses form a sequence close to the sequence of increasing the homology density of 20 nt with human DNA, which also correlates with the macrostructure of DNA. A parallel of this minimization with the DNA structure of herpes viruses or with their belonging to one or another subfamily — as well as the context of the “minimal” CpG (that is, TCGA) — is not noted in the literature. Although herpesvirus DNA is quite large (125–295 Kb), some of them (for example, HHV4, HHV5 and HHV7 DNA) show noticeable deviations from the second DNA parity rule, and can thus serve as a component of the molecular signature. The **Discussion** suggests possible hypotheses for the origin of some of the observed phenomena.

**Keywords:** *Herpesvirus DNA; tetranucleotide profile; CTAG/TCGA deficiency; Chargaff Second Parity Rule.*

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Filatov F.P., Shargunov A.V. Tetranucleotide profile of herpesvirus DNA. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(3): 216–226. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97--3-3>

Received 22 April 2020  
 Accepted 25 May 2020

## Введение

Герпесвирусы семейства *Herpesviridae*, включая HHV, делятся на три подсемейства: альфа-HV, бета-HV и гамма-HV [1]. Другой классификацией HV является классификация по макроструктуре ДНК (рис. 1). Она не совсем совпадает с делением на подсемейства и, в соответствии с общепринятыми взглядами [2], образует 6 классов — от А до F.

Альфа-HHV (HHV1, HHV2 и HHV3), а также бета-HHV (HHV5) содержат двухсегментную ДНК; каждый сегмент ограничен взаимно инвертированными мономерными концевыми повторами TR<sub>1</sub> (ДНК классов D и E). ДНК HHV класса А (бета-HHV: HHV6А, HHV6В и HHV7) представляет собой несегментированную уникальную линейную последовательность, ограниченную прямыми мономерными концевыми повторами TR<sub>1</sub>, содержащими по два «островка» теломероподобных гексануклеотидов. Гамма-HHV содержат ДНК классов В и С, которые имеют уникальную последователь-

ность, ограниченную прямыми тандемно организованными короткими (т.е. не мономерными) повторами, TR<sub>2</sub>.

Сегменты и концевые повторы ДНК класса F не структурированы, хотя иногда они просто не показаны в GenBank. Существуют герпесвирусные ДНК с более экзотической макроструктурой (например, скутавирусы), но их очень немного. Данные, полученные нами в предлагаемой работе, позволили нам объединить классы А, D и E в одну группу (сегменты ДНК, ограниченные мономерными концевыми повторами), а В, С и F — в другую (отсутствие макроструктуры или нефиксированное число тандемно организованных коротких концевых повторов).

Ранее мы заметили, что молекулы ДНК герпесвируса и его хозяина содержат короткие (20–29 нт) идентичные последовательности — микрогомологии, концентрация которых не случайна и, как мы полагаем, объясняется длительными (в эво-

DNA macrostructure	class	TR	HHV	subfamily
	D	TR <sub>1</sub>	1/2, 5	alpha, beta
	E	TR <sub>1</sub>	3	alpha
	A	TR <sub>1</sub>	6A/B, 7	beta
	B	TR <sub>2</sub>	8	gamma
	C	TR <sub>2</sub>	4	gamma
	F	TR <sub>0</sub>	–	–

**Рис. 1.** Основные макроструктурные классы ДНК HHV (пропорции длин геномных фрагментов произвольны).

TR<sub>1</sub> — мономерные терминальные повторы (одиночные прямоугольники); TR<sub>2</sub> — тандемные повторы (с нефиксированным числом повторов); TR<sub>0</sub> — терминальных повторов нет. Группа BC[F] ДНК HHV выделена серым цветом.

**Fig. 1.** Basic macrostructural classes of HHV DNA (the proportions of the lengths of the genome fragments are arbitrary).

TR<sub>1</sub> — monomeric terminal repeats (single rectangles), TR<sub>2</sub> — tandem organized repeats (non-fixed number of repeats), TR<sub>0</sub> — no terminal repeats. BC[F] group of the HHV DNA (see text) is highlighted in gray.

люционном масштабе) близкими межгеномными отношениями между партнерами [3]. Позже [4, 5] мы обнаружили, что такие микрогомологии имеют характерные особенности распределения в геноме герпесвируса, концентрируясь в основном в его концевых (прямых или инвертированных) повторах, особенно в тех областях TR, в которых нет генов. Самое интересное — это последовательность видов HHV по нарастанию плотности геномных микрогомологий вирус/хозяин, которая согласуется с макроструктурой ДНК: меньшая плотность — в двухсегментных ДНК, большая — в несегментированных. В качестве рабочей гипотезы мы предположили, что двухсегментные вирусные геномы, у которых терминальные повторы взаимно инвертированы, склонны в латентном состоянии замыкаться, скорее, на себя (подобно эписомам) и меньше взаимодействовать с хозяйской ДНК, в то время как односегментные, имеющие прямые повторы, могут вытягиваться вдоль хозяйской ДНК, что облегчает межгеномное взаимодействие.

В качестве подхода для анализа мы использовали сравнение частот нуклеотидов в молекулах ДНК и второе правило четности ДНК Чаргаффа, CPR2 [6], которое становится наглядным в ДНК размером более 100 000 нт [7, 8]. CPR2 формулируется так же, как первое (CPR1), но относится только к одной цепи ДНК. Оно имеет приблизительную точность, которая увеличивается по мере удлинения анализируемой цепи. Оно относится не только к моно-, но и к олигонуклеотидам до 10–15 нт — с уменьшением строгости по мере удлинения анализируемого олигонуклеотида [7, 9]. В метагеномике часто используется тетрануклеотидный анализ для формирования молекулярных сигнатур [10]. Частота тетрануклеотидов (TN) в геномах герпесвирусов достоверно соответствует CPR2 и обеспечивает более детальную характеристику ДНК, чем моно-, ди- и тринуклеотиды [7, 11]. В принципе, симметрии TN генома HHV были описаны ранее [12], но они только подтвердили соответствие CPR2. Наш подход обнаруживает другие необычные свойства этих геномов.

**Цель** настоящей работы — продолжение анализа формальных характеристик герпесвирусных ДНК, а также сопоставление их с плотностью ДНК-микрогомологий вирус/хозяин и с геномной макроструктурой герпесвирусов.

### Материалы и методы

Мы проанализировали около 90% нуклеотидных последовательностей полноразмерных молекул вирусной ДНК каждого рода всех трех семейств герпесвирусов позвоночных и беспозвоночных, содержащихся в GenBank. Проанализировав по 20 штаммов и изолятов каждого из 5 типов HHV (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 штаммов

HHV8, 5 штаммов HHV6A, 4 штамма HHV6B и 3 штамма HHV7, мы убедились в практической идентичности внутривидовых результатов и поэтому приводим в таблицах данные только по ДНК референс-штаммов каждого вида герпесвирусов.

Для сравнения использовали ДНК человека длиной 1,5 мегануклеотида (5 фрагментов по 300 000 нт каждый):

- фрагмент Chr 03 163229646–163529646;
- фрагмент Chr 05 29372672–29672672;
- фрагмент Chr 14 64016329–64316329;
- фрагмент Chr 21 15306102–15606102;
- фрагмент Chr 21 33931862–34231862.

Для определения частоты TN мы использовали инструменты GenBank.

### Результаты

Мы проанализировали TN-состав полностью секвенированных ДНК практически всех герпесвирусов отряда *Herpes virales*, содержащихся в GenBank. Класс ДНК, т.е. преобладание G + C или A + T в одной из ее цепей, не дает слишком много в этом отношении, разделяя HHV на две группы по классам:

- класс AT — HHV3 (альфа) и HHV6A, 6B, 7 (бета);
- класс GC — HHV1,2 (альфа), 5 (бета) и 4,8 (гамма).

Вместе с тем динуклеотидный анализ хорошо иллюстрирует CPR2 [8], по которому  $A \approx T$ ,  $C \approx G$ ,  $C + T \approx A + G$  и  $C + A \approx T + G$  для одной нити ДНК. Это определяется размером герпесвирусных ДНК — 125–295 Кб.

Общее количество TN составляет 256 (4<sup>4</sup>). Чтобы избежать влияния класса ДНК (GC или AT) на результаты подсчета, показанного ранее [8, 13, 14], мы проанализировали только те TN, которые содержат все 4 различных основания, т.е. «полные» TN — 4TN. В ДНК HHV1 (класс GC) наименьшим («недопредставленным») является именно такой 4TN — CTAG (91 нт на геном из ~150 тыс. пар оснований). В ДНК HHV6A (класс AT) число CTAG также близко к наименьшему (303 нт) среди всех тетрамеров и является наименьшим из 4TN. Меньше только AGGG (287) и GGCT (296) — в соответствии с классом ДНК. Это обстоятельство еще раз обосновывает выбор именно «полных» наборов для анализа TN.

Из 256 TN только 24 состоят из всех 4 нуклеотидов ( $P_4 = 4! = 24$ ). Эти 24, в свою очередь, делятся на две группы: 8 из них (октет A) при инверсии не меняются, например CTAG|CTAG, остальные (октет B) составляют пары B1 и B2 взаимноинвертированных неидентичных TN, например, CTAG|TCAG. В таблицах и на рисунках октеты A и B показаны отдельно. Для корректного сравнения данные представлены в процентах от суммы частот TN каж-

дого октета, А и В. В **табл. 1** сравниваются данные по всем 24 обсуждаемым TN октетов А и В (референс-штаммы) всех известных типов HHV. Данные табл. 1 показывают, что тетрамер СТАГ «недопредставлен» в геномах всех HHV, за исключением HHV7; в последнем «недопредставлен» тетрамер АСТГ. В ДНК HHV4 «недопредставлен» тетрамер ТСГА (как и в геноме человека).

В соответствии со снижением «недопредставленности» СТАГ геномы HHV образуют последова-

тельность, которая напоминает последовательность ДНК-микроргомологий вирус/хозяин по нарастанию их плотности (**рис. 2**): наибольшая «недопредставленность» СТАГ характерна для двухсегментных ДНК, наименьшая — для односегментных.

В то же время ДНК каждого HHV содержит «сверхпредставленные» TN, которые также характерны для геномов определенной макроструктуры: АСГТ — для двухсегментной ДНК (классы D, E),

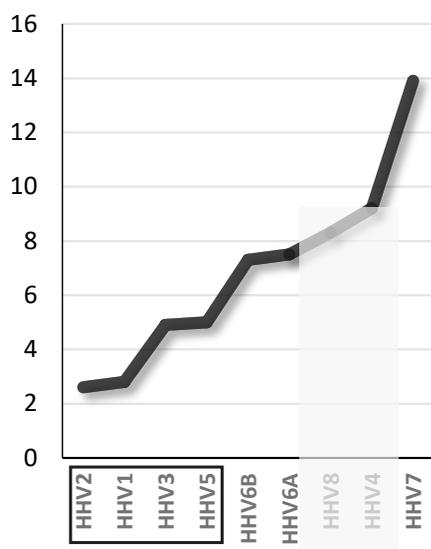
**Таблица 1.** Профиль идентичных (октет А) и неидентичных (октеты В1 и В2) тетрамеров, содержащих 4ТНТ 8 типов HHV (референс-штаммы), выраженный в процентах от общего числа результатов по октетам А и В раздельно

**Table 1.** Profile of identical (octet A) and non-identical (octets B1 and B2) tetramers containing four different nucleotides (4TN) of eight types of HHV (reference strains), expressed as a percentage of the total number of the octets A and B separately

HHV	1	2	3	5	6A	6B	7	4	8	4TN Human
subfamily	alpha			beta			gamma			
TR	$TR_1$						$TR_2$			
<b>4TN octet A</b>										
<b>СТАГ</b>	2,8	2,6	4,9	5,0	7,5	7,3	13,9	9,2	8,3	12,2
<b>ТСГА</b>	14,5	15,1	10,6	10,9	15,0	14,7	9,1	6,6	8,6	2,4
AGCT	12,7	13,7	8,2	11,2	10,3	11,2	17,7	18,4	15,1	18,9
GATC	13,2	13,5	12,9	11,6	13,6	14,0	10,8	10,3	10,0	11,4
CATG	15,1	13,1	15,7	13,7	13,8	14,4	14,1	19,6	16,2	21,6
TGCA	11,2	11,7	15,6	12,6	15,0	14,9	17,9	17,9	15,9	22,3
<b>АСГТ</b>	16,9	17,5	18,7	20,9	14,8	14,1	8,1	9,6	13,7	3,0
GTAC	13,6	12,8	13,4	14,1	10,0	9,4	8,4	8,4	12,2	8,2
<b>4TN octet B1</b>										
CTGA	5,3	5,4	3,9	5,9	6,9	7,1	7,6	8,9	7,4	11,2
<b>ТАСГ</b>	7,2	7,0	8,3	7,6	5,9	5,3	3,4	2,6	4,8	1,0
GCAT	7,2	6,8	8,5	5,3	6,8	6,8	7,3	7,6	6,6	7,6
AGTC	5,5	5,4	4,3	5,9	5,7	5,7	5,9	7,9	5,8	6,3
CAGT	5,2	4,6	6,1	5,9	6,0	6,3	7,8	8,9	8,0	9,6
<b>АТСГ</b>	8,2	7,5	8,3	6,5	7,7	7,2	4,9	3,0	4,5	1,1
GCTA	3,4	3,2	4,4	4,4	4,1	4,0	4,9	4,8	5,1	6,3
TGAC	6,9	7,1	5,7	8,0	6,5	6,6	6,9	8,2	8,0	6,7
<b>4TNs octet B2</b>										
TCAG	6,3	6,0	4,9	6,0	6,7	7,3	7,9	10,6	7,3	10,9
<b>СГТА</b>	7,5	8,0	7,9	7,7	6,1	6,0	4,0	3,3	4,7	1,0
ATGC	7,7	8,8	8,1	5,6	6,1	6,7	7,5	7,0	6,7	7,5
GACT	5,0	5,7	5,2	5,0	5,4	5,7	4,9	5,4	6,3	6,7
ACTG	5,0	4,5	6,3	5,9	6,9	6,7	7,3	6,2	8,7	10,0
<b>СГАТ</b>	7,2	6,8	8,5	5,3	6,8	6,8	5,0	3,0	6,6	1,1
TAGC	3,7	3,1	4,7	5,2	5,3	5,1	7,8	4,8	4,4	6,3
GTCA	7,6	7,2	5,6	8,3	6,6	6,2	6,9	8,4	7,7	6,7

**Примечание.** Жирными буквами обозначены тетрамеры СТАГ и димеры СpG в обсуждаемых в тексте тетрамерах (соответствующие ячейки обоих октетов выделены серым цветом).

**Note.** Bold letters are tetramers CTAG and dimers CpG in the tetramers discussed in text (corresponding cells of the both octets are highlighted in gray).



**Рис. 2.** Частота (%) СТАГ среди 4TN октета А в ДНК герпесвирусов человека.

HHV4 и HHV8 (классы ДНК ВС[F]) отмечены серым. В прямоугольнике — четыре HHV класса DE.

**Fig. 2.** Frequency (%) of CTAG among other 4TNs of the octet A in human herpesvirus DNA.

HHV4 and HHV8 (BC[F] DNA classes) are marked in gray. In the rectangle there are four HHVs of DE classes.

TGCA — для односегментной (класс А, розеоловирусы) и CATG — для односегментных (классы В, С). Однако, поскольку ДНК вирусов герпеса, отличных от человека, очень слабо представлена для видов-хозяев в GenBank, мы не приводим результаты анализа по «максимальным» TN.

Колонки чисел, относящихся к ДНК каждого вируса, представляют собой TN-профили ДНК,

и они — в случае HHV4, 8 и 7 — демонстрируют определенное сходство с профилем ДНК человека. В некоторых случаях (HHV4, 5, 7) представленные попарно TN октетов **B1** и **B2** демонстрируют характерные отклонения от CPR2, которые, вероятно, связаны с недостаточными размерами ДНК этих вирусов или с недостаточным числом штаммов в GenBank, которое не обеспечивает достоверность соответствующих данных. Позитивная сторона таких отклонений заключается в том, что они могут быть использованы в качестве компонентов молекулярных сигнатур этих вирусов.

Обращает на себя внимание, что разница между максимальными и минимальными значениями в октете А существенно больше, чем в октете В. В тех случаях, когда показатели плотности TN октета В меньше, чем октета А, их «недопредставленность» напрямую связана с классом ДНК, т.е. они имеют вид [TA/AT][GC/CG]; левая и правая пары тетрамера могут меняться местами, а знак «/» означает «или». Таких TN — 8, и их причастность к формированию класса ДНК не имеет значения для использования — вместе с другими полными тетрамерами — в качестве молекулярных сигнатур. В табл. 2 суммированы данные по «минимальным» («недопредставленным») 4TN ДНК герпесвирусов человека. Анализ серий штаммов (до 20) одного и того же типа HHV показал почти полную идентичность результатов, что в первом приближении позволило считать полученные результаты достаточно надежными.

Далее мы провели TN-анализ полностью секвенированных ДНК почти всех других видов вирусов суперсемейства *Herpesvirales* (табл. 3).

**Таблица 2.** Обобщенная версия данных о ДНК HHV (семейство *Herpesviridae*)

**Table 2.** A generalized version of the data on the human herpesviruses DNA (family *Herpesviridae*)

Подсемейство Subfamily	Род Genus	Вид Species	Номер Reference	Размер ДНК, Кб Size of the DNA, Kb	Класс Class	Тип Type	«Недопредставленные» 4TN 4TN <sub>min</sub>	Количество изученных штаммов Number of studied strains
alpha	Herpes simplex virus	HHV1	NC_001806	155	E	GC	CTAG	20
	Herpes simplex virus	HHV2	NC_001798	155	E	GC	CTAG	20
	Varicella-Zoster virus	HHV3	NC_001348	125	D	AT	CTAG	20
beta	Cytomegalovirus	HHV5	NC_006273	236	E	GC	CTAG	20
	Roseoloviruses	HHV6A	NC_001664	159	A	AT	CTAG	5
		HHV6B	NC_000898	162	A	AT	CTAG	4
		HHV7	NC_001716	153	A	AT	<b>ACGT</b>	3
gamma	Lymphocryptovirus	HHV4	NC_007605	172	C	GC	<b>TCGA</b>	20
	Rhadinovirus	HHV8	NC_009333	138	B	GC	CTAG	10

**Примечание.** Не-CTAG<sub>min</sub> ДНК выделены курсивом (CpG — жирным курсивом). HHV, в ДНК которых CpG>GpC, выделены серым цветом.

**Note.** Non-CTAG<sub>min</sub> DNAs are highlighted in italics (CpG — in bold italics). HHVs in the DNA with CpG>GpC are highlighted in gray.

**Таблица 3.** «Недопредставленные» TN в ДНК герпесвирусов животных (семейства *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae* и *Malacoherpesviridae*)Table 3. A generalized version of the data on the DNA of animal herpesviruses (families *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae* and *Malacoherpesviridae*)

Подсемейство Subfamily	Род Genus	Вид Species	Номер Reference	Размер ДНК, Кб Size of the DNA, Kb	Класс Class	Тип Type	«Недопредстав- ленные» 4TN 4TN <sub>min</sub>	
<b>Семейство: <i>Herpesviridae</i> (герпесвирус животных)</b> <b>Family: <i>Herpesviridae</i> (animal HV)</b>								
alpha	Iltovirus	Gallid AHV1	NC_006623	149	D	AT	CTAG	
		Psittacid AHV1	NC_005264	163	D	GC	CTAG	
	Mardivirus	Anatid AHV1	NC_013036	158	F	AT	CTAG	
		Columbid AHV1	NC_034266	204	E	GC	CTAG	
		Falconid AHV1	NC_024450	204	E	GC	CTAG	
		Gallid AHV2	NC_002229	178	E	AT	CTAG	
		Gallid AHV2	MF431495	178	E	AT	CTAG	
		Gallid AHV3	NC_002577	164	E	GC	CTAG	
		Meleagrid AHV1	NC_002641	159	E	AT	CTAG	
		Sphenicid AHV1	NC_033464	165	D	AT	CTAG	
		Scutavirus	Testudinid HV3	NC_002794	196	D*	AT	TGCA
			Simplex virus	Ateline AHV1	NC_034446	147	D	GC
	Cercopithecine AHV2	NC_006560		151	E	GC	CTAG	
	Panine HV3	NC_023677		153	E	GC	CTAG	
	Leporide AHV4	NC_029311		124	E	GC	CTAG	
	Macacine AHV1	NC_004812		157	E	GC	CTAG	
	Macropodid AHV1	NC_029132		140	D	GC	CTAG	
	Papiine AHV2	NC_007453		156	E	GC	CTAG	
	Saimiriine AHV1	NC_014567		157	D	GC	TGCA	
	Fruit bat AHV1	NC_024306		149	E	GC	GTAC	
	Varicella virus	Bovine AHV1		NC_001847	135	D	GC	CTAG
		Bovine AHV5		NC_005261	138	F	GC	CTAG
		Bubaline AHV1		NC_043054	137	F	GC	CTAG
		Cercopithecine AHV9		NC_002686	125	D	AT	CTAG
		Equid AHV3	NC_024771	184	E	GC	CTAG	
		Suid AHV1	NC_006151	143	D	GC	CTAG	
		Canid AHV1	NC_030117	125	D	AT	TCGA	
Equid AHV4		NC_001844	146	D	GC	TCGA		
Felid AHV1		NC_013590	136	D	AT	TCGA		
Equid AHV1		NC_001491	150	D	GC	GATC		
Equid AHV8	NC_017826	149	F	GC	GATC			
Equid AHV9	NC_011644	148	D	GC	GATC			
beta	Cytomegalovirus	Aotine BHV1	NC_016447	219	E	GC	CTAG	
		Caviid BHV2	NC_020231	234	A	GC	CTAG	
		Cercopithecine BHV5	NC_012783	226	A	GC	CTAG	
		Papio ursinus CMV	NC_027016	226	F	GC	CTAG	
		Cynomolgus CMV	NC_033176	224	A	AT	CTAG	
		Macacine BHV3	NC_006150	221	F	AT	CTAG	
		Panine BHV2	NC_003521	241	D	GC	CTAG	
		Saimiriine BHV4	NC_016448	197	E	AT	CTAG	

Окончание табл. 3 / End of Table 3

Подсемейство Subfamily	Род Genus	Вид Species	Номер Reference	Размер ДНК, Кб Size of the DNA, Kb	Класс Class	Тип Type	«Непредставленные» 4TN 4TN <sub>min</sub>
gamma	Muromegalovirus	Murid BHV1	NC_004065	230	F	GC	CTAG
		Murid BHV8	NC_019559	203	F	AT	CTAG
		Rat CMV Maastricht	NC_002512	230	A	GC	CTAG
	Proboscivirus	Elephant BHV4	NC_028379	206	F	GC	CTAG
		Elephant BHV5	NC_024696	181	A	AT	CTAG
		Elephantid BHV1	NC_020474	180	A	AT	CTAG
	Roseolovirus	Murine roseolovirus	NC_033620	174	F	AT	CTAG
		Macaca nemestrina	NC_030200	137	A	AT	CTAG
		Suid BHV2	NC_022233	128	A	AT	CTAG
	Macavirus	Alcelaphine GHV1	NC_002531	131	F	AT	TCGA
		Alcelaphine GHV2	NC_024382	137	F	AT	TCGA
		Bovine GHV6	NC_024303	145	F	AT	TCGA
		Ovine GHV2	NC_007646	135	F	AT	TCGA
	Percavirus	Felis catus GHV1	NC_028099	123	F	AT	TCGA
		Equid GHV5	NC_026421	182	B	GC	TCGA
		Equid GHV2	NC_001650	184	A	GC	TCGA
	Rhadinovirus	Ateline GHV3	NC_001987	108	F	AT	TCGA
		Cricetid GHV2	NC_015049	124	F	AT	TCGA
		Murid GHV4	NC_001826	119	F	AT	TCGA
		Saimiriine GHV2	NC_001350	113	F	AT	TCGA
		Dolphin GHV1	NC_035117	167	F	AT	CTAG
	Lymphocryptovirus	Macacine GHV5	NC_003401	134	F	GC	CTAG
		Callitrichine GHV3	NC_004367	150	F	AT	TCGA
		Macacine GHV4	NC_006146	171	F	GC	TCGA
	Unclassified gamma	Rhinolophus GHV1	NC_040539	148	A	AT	TCGA
	Unclassified gamma	Eptesicus fuscus GHV	NC_040615	167	F	GC	CTAG
<b>Семейство: <i>Alloherpesviridae</i> (герпесвирус рыб и земноводных)</b> <i>Family: Alloherpesviridae (pisces and amphibia HV)</i>							
Cyprinivirus	Anguillid HV1	NC_013668	249	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV2	NC_019495	290	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV3	NC_009127	295	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV1	NC_019491	291	A	GC	TCGA	
Ictalurivirus	Ictalurid HV1	NC_001493	134	F	GC	CTAG	
	Ictalurid HV2	NC_036579	143	A	GC	CTAG	
Batrachovirus	Ranid HV1	NC_008211	221	A	GC	CTAG	
	Ranid HV2	NC_008210	232	A	GC	CTAG	
<b>Семейство: <i>Malacoherpesviridae</i> (герпесвирус беспозвоночных)</b> <i>Family: Malacoherpesviridae (invertebrates HV)</i>							
Aurivirus	Haliotid HV1	NC_018874	212	E	AT	CTAG	
Ostreavirus	Ostreid HV1	NC_005881	207	F	AT	CTAG	
<b>Неклассифицированный герпесвирус / Unclassified Herpesvirales</b>							
Unclassified	Bufonid HV1	NC_040681	158	F	AT	TCGA	

**Примечание.** Серые ячейки — ДНК класса BC[F] и «минимальные» не-CTAG TN. D\* — необычная макроструктура ДНК вируса Testudinid HV3, в которой два примерно равных сегмента, ограниченные концевыми повторами, разделены короткой уникальной последовательностью.

**Note.** Gray cells — BC [F] class DNA and “minimal” non-CTAG TN. Asterix in D\* denotes the unusual macrostructure of the Testudinid HV3 DNA, in which two approximately equal segments bounded by terminal repeats are separated by a short unique sequence.

**Таблица 3** показывает, что все герпесвирусы разделены на две группы в соответствии с двумя основными «недопредставленными» TN — STAG или TCGA. Разница между этими двумя группами следует из их геномной макроструктуры. Минимальный STAG (STAG<sub>min</sub>) характерен для классов A, D, E структурированной ДНК с большими мономерными концевыми повторами — TR<sub>1</sub>, TCGA<sub>min</sub> характерен для менее строго структурированных классов ДНК B, C[F] с нефиксированными тандемными концевыми повторами — TR<sub>2</sub>.

### Обсуждение

«Недопредставленность» TN STAG (STAG<sub>min</sub>) в геномах *эшерихий* и *сальмонелл*, а также некоторых фагов известна давно [15] и продолжает изучаться [16]. Мы впервые систематически показываем эту особенность для всех известных герпесвирусных ДНК и предполагаем ее возможную связь с их структурой. STAG<sub>min</sub> характерен для ДНК большей группы герпесвирусов (классы A, D, E) с наличием одного или двух сегментов, ограниченных мономерными концевыми повторами (TR<sub>1</sub>, прямыми или взаимно инвертированными). TCGA<sub>min</sub> характерен для ДНК меньшей группы герпесвирусов (классы B, C[F]) с односегментным геномом, ограниченным неопределенным числом тандемно организованных прямых концевых повторов (TR<sub>2</sub>).

На мысль о более общей природе параллелей STAG<sub>min</sub>|ADE и TCGA<sub>min</sub>|BC[F] среди вирусов животных наводит «недопредставленность» STAG за рамками отряда *Herpesvirales*, в частности в ДНК вирусов африканской чумы свиней (*Asfarviridae*) и фибромы Shope у кроликов (*Poxviridae*), структурированных аналогично герпесвирусам A, D, E. В то же время геномы вирусов оспы и осповакцины (*Poxviridae*) не структурированы подобным образом, в них нет «недопредставленности» STAG. Эти наблюдения требуют серьезного расширения обсуждаемых исследований в других таксономических группах вирусов животных.

Термодинамическая модель STAG в составе РНК показывает, что этот тетрамер нарушает оптимальную структуру створчатых петель молекулы, которые контролируют экспрессию генов, увеличивая их свободную энергию. Авторы этой гипотезы [15] предположили также, что общий предок *Salmonella* и *Escherichia* имел значительно более высокую плотность STAG, но эволюционное вырождение привело к замене STAG у его потомков, и эта тенденция в настоящее время сохраняется. В серии генов и в межгенных пространствах у *Escherichia* и *Salmonella* это вырождение выразилось в эволюционной замене STAG, в первую очередь на CTGG.

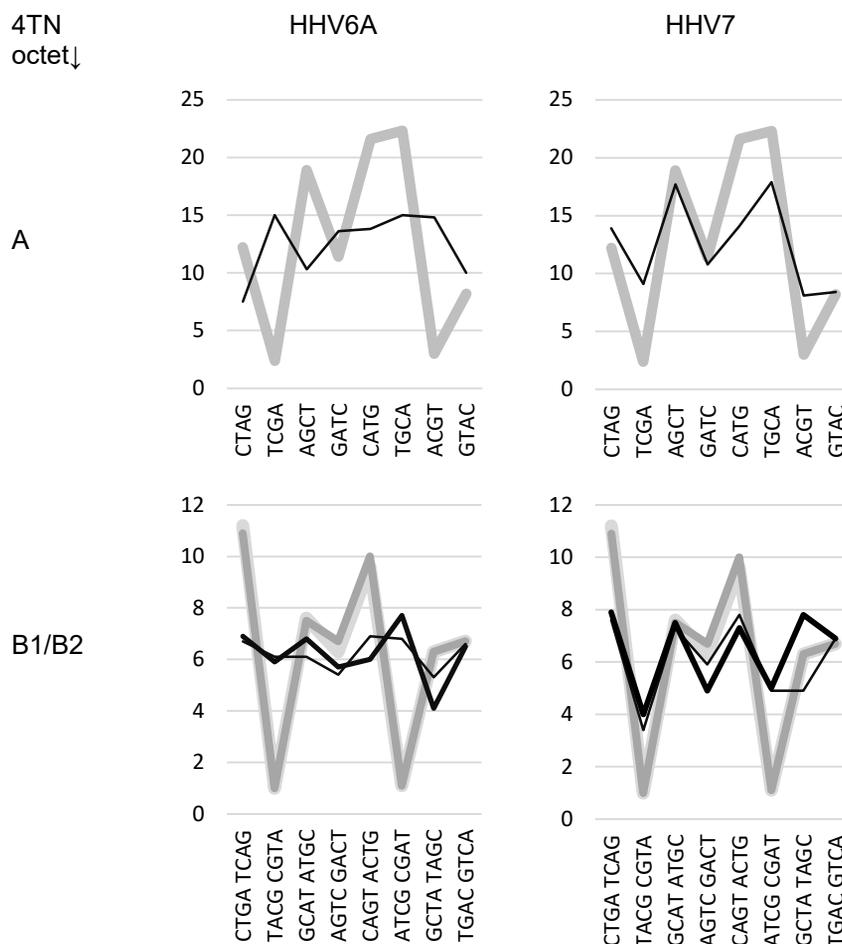
В этом отношении наиболее уместно сравнить филогенетически родственные (одного рода) розеоловирусы человека HHV6 и HHV7. В ДНК

обоих вирусов — по сравнению с другими вирусами герпеса — частоты STAG и CTGG наиболее различны. Сравнение показывает, что если в HHV7 (NC\_001716) отношение частот STAG:CTGG составляет 530:301 соответственно, то в HHV6A (NC\_001664) оно даже противоположное и составляет 303:391 — при близких размерах ДНК обоих вирусов. Если наблюдение Le Tang с соавт. [16] в какой-то мере применимо и к обсуждаемым герпесвирусам, то HHV7, очевидно, ближе к эволюционному предшественнику обоих розеоловирусов, чем HHV6, в котором многие STAG были заменены на CTGG. В то же время HHV6 приобрел способность интегрировать свой геном в геном хозяина, что, как правило, не является обязательным условием для более тесных отношений с ДНК хозяина [17], о чем свидетельствует сходство профиля TN HHV7 (но не HHV6) и ДНК человека (рис. 3), а также более высокий уровень ДНК-микргомологии вирус/хозяин в HHV7, чем в HHV6, или более низкий уровень такой микргомологии у мардивирусов с выраженными теломерными островками в концевых повторах сегментов ДНК [5, 18].

На рис. 3 дополнительно показаны некоторые особенности проанализированных профилей 4TN вирусных ДНК. В соответствии с CPR2 сходство между B1 и B2 в ДНК человека намного больше, чем в ДНК вирусов, поскольку фрагменты ДНК человека имеют здесь длину 300 Кб, а геномы HHV намного короче. В HHV7 различия между B1 и B2 достаточно характерны и могут использоваться в качестве элемента молекулярной сигнатуры ДНК этого вируса (то же относится к профилю 4TN HHV4; рис. 4). Тот факт, что GenBank представляет полные (почти полные) последовательности ДНК только трех штаммов HHV7, позволяет применять статистические методы для подтверждения представленных здесь данных с большими оговорками. По этой причине мы не использовали здесь эти методы, отметив, что сегодня это лишь похоже на факт.

На рис. 4 приведено сравнение 4TN-профиля ДНК другой пары вирусов — HHV1 и HHV4. В случае HHV1 низкое содержание STAG позволяет вирусу вызывать острую продуктивную инфекцию и накапливаться в клетках входных ворот (в тех же фибробластах), а затем переходить в нейроны, где он будет оставаться на всю жизнь — в частности, из-за ингибирующего действия эпигенетических механизмов хозяина, одним из которых является метилирование вирусной ДНК. Концентрация динуклеотидов CpG в геноме HHV1 существенно превышает среднее значение (табл. 1).

Низкие уровни STAG могут играть роль в обострении латентных инфекций. В случае HHV4 первичная литическая инфекция не характеризуется высоким уровнем вирусных синтезов, а после перехода в хроническую фазу она также регулируется



**Рис. 3.** 4TN-профиль ДНК HHV6A и HHV7 по сравнению с профилем 4TN ДНК человека.

Октет А: ДНК человека выделена серым, вирусная ДНК — черным. Октет В: график В1 ДНК человека выделен светло-серым, В2 — темно-серым; график В1 ДНК вируса выделен жирным черным, В2 — тонким черным.

**Fig. 3.** 4TN profile of HHV6A and HHV7 DNA compared to human DNA 4TN profile.

Octet A: human DNA is highlighted in gray, viral DNA — in black.

Octet B: human B1 is highlighted in light gray, human B2 is highlighted in dark gray, virus B1 is highlighted in bold black, B2 — in thin black.

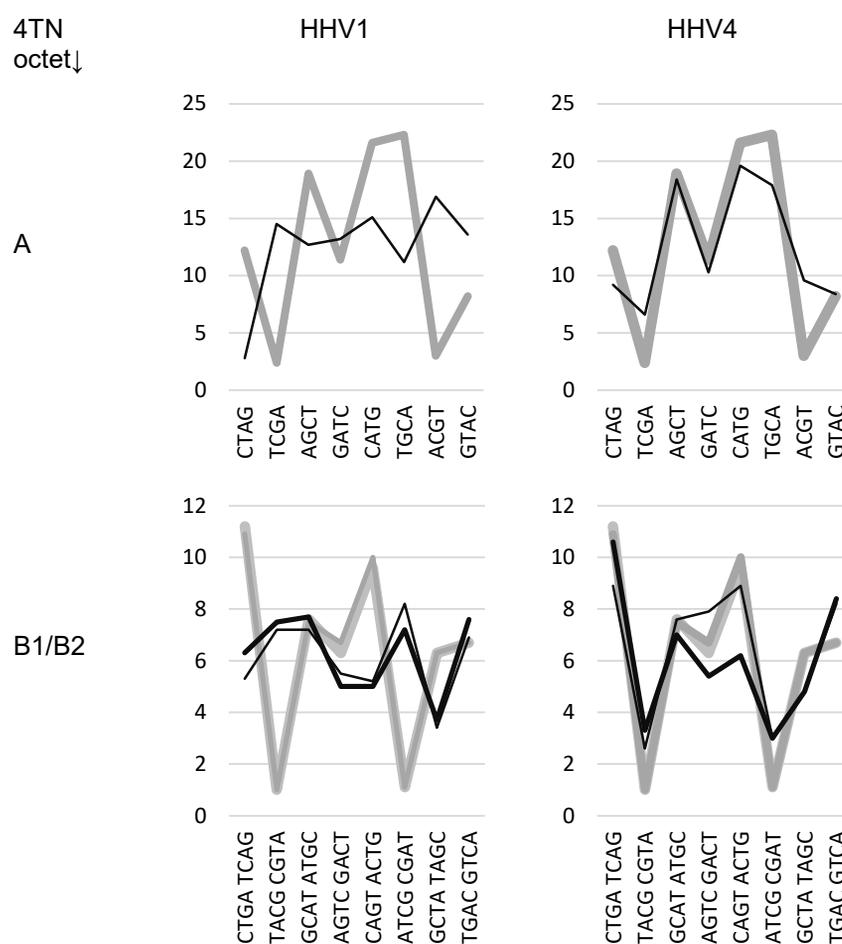
эпигенетическими инструментами, включая метилирование цитозина в составе CpG [18, 19]. В то же время очевидная близость 4TN-профилей генома HHV4 и хозяина указывает на сходную реакцию на эти регулирующие инструменты. То же самое можно сказать о HHV8 и эпигенетической регуляции его генов [19, 20]. Из многих эпигенетических механизмов, которые модифицируют экспрессию генов вируса и хозяина, мы рассматриваем здесь только метилирование ДНК, точнее, метилирование цитозина в CpG, поскольку этот димер является частью тетрамера TCGA, что позволяет сравнивать его с другим тетрамером, CTAG, в предложенном здесь аспекте.

Гипотеза о низкой плотности тетрамера CTAG из-за его эволюционного вырождения не объясняет очевидных ограничений его использования и во все не касается причин низкой плотности другого тетрамера октета А, TCGA, в ДНК представителей

этого же суперсемейства. Около 40% CpG, центральной пары этого тетрамера, находится в промоторных зонах млекопитающих [21, 22] и имеет гораздо более низкую плотность в полных последовательностях геномов позвоночных, чем можно было бы ожидать [23, 24]. Эта «недопредставленность» является следствием высокой частоты мутаций метилированных сайтов CpG в геномах хозяев и их вирусов, особенно тех, которые тесно взаимодействуют с ДНК хозяина.

Причины пониженного содержания CpG неоднократно обсуждались и прежде [25], однако вопрос заключается не столько в низкой плотности CpG, сколько в контексте этой пары, т.е. в составе TCGA, поскольку этот тетрамер представлен в герпесвирусных ДНК в значительно меньшей концентрации, нежели ACGT.

Данные Le Tang и соавт. [16] показывают, что само по себе минимальное содержание CTAG (и TCGA) не ограничивается герпесвирусной ДНК.



**Рис. 4.** 4TN-профиль HHV1 и HHV4 ДНК по сравнению с профилем 4TN ДНК человека.

Октет А: ДНК человека выделена серым, вирусная ДНК — черным. Октет В: график В1 ДНК человека выделен светло-серым, В2 — темно-серым; график В1 ДНК вируса выделен жирным черным, В2 — тонким черным.

**Fig. 4.** 4TN profile of HHV1 and HHV4 DNA compared to human DNA 4TN profile.

Octet A: human DNA is highlighted in gray, viral DNA — in black.

Octet B: human B1 is highlighted in light gray, human B2 is highlighted in dark gray, virus B1 is highlighted in bold black, B2 — in thin black.

Мы проанализировали TN-профиль больших ДНК с концевыми повторами некоторых других вирусов. Обнаружено, что CTAG является «минимальным» у вирусов африканской чумы свиней (семейство *Asfarviridae*) и вируса фибромы Shope (семейство *Poxviridae*), но не у вирусов оспы и осповакцины (также семейства *Poxviridae*), ДНК которых не имеет терминальных повторов. Это означает, что при построении филогенетических деревьев необходимо учитывать не только изменения в генах и белках, но и эволюцию молекулы ДНК, включая ее обсуждаемые здесь характеристики.

В первом приближении для анализа плотности потенциально метилируемого цитозина в геномах герпесвирусов достаточно оценить соотношение CpG:GpC (т.е. проанализировать динуклеотидный профиль ДНК), которое не связано с типом генома (AT или GC). Эту оценку можно проследить в табл. 2: ДНК HHV с CpG>GpC (в серых ячейках). В этом случае результаты, представленные здесь,

будут касаться только концентрации и соотношения CTAG/CpG в герпесвирусных ДНК, которые могут влиять на уровень вирусных синтезов. В наиболее общем (не строгом) виде это соотношение имеет зеркальный характер: наиболее низкая концентрация CTAG сопровождается самой высокой концентрацией CpG (табл. 1). Тем не менее соотношение CTAG/CpG обедняет получаемую информацию, которая указывает на различие именно в TN-профиле герпесвирусных ДНК, CTAG/TCGA. Другими словами, составляющей этого отношения является TCGA/ACGT, четко выраженное в рамках классов DE/A/BC[F] (табл. 1). В свою очередь, это указывает на необходимость учитывать контекст, который определяет функциональную ценность димера CpG. Возможно, этот контекст выходит за рамки тетрамера. Для надежных выводов необходимо расширить исследования за рамки герпесвирусов — при серьезном пополнении GenBank новыми полными последовательностями вирусных ДНК. Но в любом

случае результаты, продемонстрированные здесь, указывают на то, что биологический смысл макро-структуры герпесвирусной ДНК гораздо глубже, чем принято считать.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Whitley R., Kimberlin D., Prober C. Pathogenesis and disease. In: Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarsky E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., eds. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis. Chapter 32*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
- Pellett P., Roizman B. Herpesviridae. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013: 1802-2.
- Zabolotneva A., Tkachev V., Filatov F., Buzdin A. How many antiviral small interfering RNAs may be encoded by the mammalian genomes? *Biol. Direct*. 2010; 5: 62. DOI: <http://doi.org/10.1186/1745-6150-5-62>
- Filatov F., Shargunov A. Short nucleotide sequences in herpesviral genomes identical to the human DNA. *J. Theor. Biol.* 2015; 372: 12-21. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.02.019>
- Filatov F., Shargunov A. Microhomology of Viral/Host DNAs and macrostructure of herpesviral genome. *Int. J. Virol. AIDS*. 2018; 5(1): 042. DOI: <http://doi.org/10.23937/2469-567X/1510042>
- Rudner R., Karkas J.D., Chargaff E. Separation of B. subtilis DNA into complementary strands, 3. Direct Analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1968; 60(3): 921-2. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.60.3.921>
- Forsdyke D.R. Symmetry observations in long nucleotide sequences: a commentary on the discovery note of Qi and Cuticchia. *Bioinformatics*. 2002; 18(1): 215-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.1.215>
- Albrecht-Buehler G. Asymptotically increasing compliance of genomes with Chargaff's second parity rules through inversions and inverted transpositions. Version 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103(47): 17828-33. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0605553103>
- Baisnee P.F., Hampson S., Baldi P. Why are complementary strands symmetric? *Bioinformatics*. 2002; 18(8): 1021-33. DOI: <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.8.1021>
- Gori F., Mavroeidis D., Jetten M.S.M., Marchiori E. The importance of Chargaff's second parity rule for genomic signatures in metagenomics. Available at: <http://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2017/06/04/146001.full.pdf>
- Pride D.T., Blaser M.J. Identification of horizontally acquired genetic elements in *Helicobacter pylori* and other prokaryotes using oligonucleotide difference analysis. *Genome Lett.* 2002; 1(1): 2-15. DOI: <http://doi.org/doi.org/10.1166/gl.2002.003>
- Prabhu V.V. Symmetry observations in long nucleotide sequences. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21(12): 2797-800. DOI: <http://doi.org/10.1093/nar/21.12.2797>
- Albrecht-Buehler G. The three classes of triplet profiles of natural genomes. *Genomics*. 2007; 89(5): 596-601. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.12.009>
- Zhang S.H., Wang L. A novel common triplet profile for GC-rich prokaryotic genomes. *Genomics*. 2011; 97(5): 330-1. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2011.02.005>
- Burge C., Campbell A.M., Karlin S. Over- and under-representation of short oligonucleotides in DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992; 89(4): 1358-62. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.89.4.1358>
- Tang L., Zhu S., Mastriani E., Fang X., Zhou Y.J., Li Y.G., et al. Conserved intergenic sequences revealed by CTAG-profiling in Salmonella: thermodynamic modeling for function prediction. *Sci. Rep.* 2017; 7: 43565. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep43565>
- Bhende P.M., Seaman W.T., Delecluse H.J., Kenney S.C. The EBV lytic switch protein, Z, preferentially binds to and activates the methylated viral genome. *Nat. Genet.* 2004; 36(10): 1099-104. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng1424>
- Kaufner B.B., Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr. Opin. Virol.* 2014; 9: 111-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.09.010>
- Woellmer A., Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus and host cell methylation: regulation of latency, replication and virus reactivation. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(3): 260-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.coviro.2013.03.005>
- Lim C., Lee D., Seo T., Choi C., Choe J. Latency associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus functionally interacts with heterochromatin protein 1. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(9): 7397-405. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M211912200>
- Pantry S.N., Medveczky P.G. Epigenetic regulation of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus replication. *Semin. Cancer Biol.* 2009; 19(3): 153-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.semcancer.2009.02.010>
- Fatemi M., Pao M.M., Jeong S., Gal-Yam E.N., Egger G., Weisenberger D.J., et al. Footprinting of mammalian promoters: use of a CpG DNA methyltransferase revealing nucleosome positions at a single molecule level. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33(20): e176. DOI: <http://doi.org/10.1093/nar/gni180>
- Lander E.S., Linton L.M., Birren B., Nusbaum C., Zody M.C., Baldwin J., et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409(6822): 860-921. DOI: <http://doi.org/10.1038/35057062>
- Stevens M., Cheng J., Li D., Xi M., Hong C., Maire C., et al. Estimating absolute methylation levels at single-CpG resolution from methylation enrichment and restriction enzyme sequencing methods. *Genome Res.* 2013; 23(9): 1541-53. DOI: <http://doi.org/10.1101/gr.152231.112>
- Nicholas J. Evolutionary aspects of oncogenic herpesviruses. *Mol. Pathol.* 2000; 53(5): 222-37. DOI: <http://doi.org/10.1136/mp.53.5.222>

**Информация об авторах:**

**Филатов Феликс Петрович** — к.м.н., д.б.н., в.н.с. лаб. молекулярной биотехнологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>. E-mail: [felix001@gmail.com](mailto:felix001@gmail.com)

**Шаргунов Александр Валерьевич** — ведущий инженер, лаб. генетики ДНК-содержащих вирусов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5536-1557>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Felix P. Filatov** — PhD (Med.), D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of molecular biotechnology, Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia; leading researcher, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>. E-mail: [felix001@gmail.com](mailto:felix001@gmail.com)

**Alexander V. Shargunov** — leading engineer, Laboratory of DNA-containing viruses genetics, Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5536-1557>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



# Tetranucleotide Profile of Herpesvirus DNA

Felix P. Filatov<sup>1,2✉</sup>, Alexander V. Shargunov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia

**Introduction.** Herpesvirus DNAs (about 90% of the total genomic sequences of the *Herpesvirales* family presented in GenBank) contain at a minimum concentration one of the two tetranucleotides, CTAG or TCGA. The “underrepresentation” of CTAG was previously observed only in the DNA of some bacteria and phages. The **aim** of the study was the further analysis of the formal characteristics of herpesvirus DNA, as well as their comparison with the density of the virus/host DNA microhomology and with the genomic macrostructure of herpes viruses.

**Materials and methods.** Twenty strains and isolates of each of the five types of human herpes viruses (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 strains of HHV8, 5 strains of HHV6A, 4 strains of HHV6B and 3 strains of HHV7 were analyzed. GenBank tools were used to determine the frequency of tetranucleotides, and human DNA fragments with size matched herpesvirus DNA were used for comparison.

**Results.** Minimum CTAG concentration in DNA of herpes viruses is mainly characteristic of two- and single-segment genomes with direct or inverted terminal repeats (classes A,D,E), while the minimum TCGA density is characteristic mainly for DNA that is significantly less structured (classes B,C,F). By increasing CTAG density, human herpes viruses form a sequence close to the sequence of increasing the homology density of 20 nt with human DNA, which also correlates with the macrostructure of DNA. A parallel of this minimization with the DNA structure of herpes viruses or with their belonging to one or another subfamily — as well as the context of the “minimal” CpG (that is, TCGA) — is not noted in the literature. Although herpesvirus DNA is quite large (125–295 Kb), some of them (for example, HHV4, HHV5 and HHV7 DNA) show noticeable deviations from the second DNA parity rule, and can thus serve as a component of the molecular signature.

The **Discussion** suggests possible hypotheses for the origin of some of the observed phenomena.

**Keywords:** *Herpesvirus DNA; tetranucleotide profile; CTAG/TCGA deficiency; Chargaff Second Parity Rule.*

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Filatov F.P., Shargunov A.V. Tetranucleotide profile of herpesvirus DNA. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(3): 216–226. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-3>

Received 22 April 2020

Accepted 25 May 2020

## Тетрануклеотидный профиль герпесвирусных ДНК

Филатов Ф.П.<sup>1,2✉</sup>, Шаргунов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия

**Введение.** Герпесвирусные ДНК (около 90% всех полногеномных последовательностей семейства *Herpesvirales*, представленных в GenBank) содержат в минимальной концентрации один из двух тетрануклеотидов — CTAG или TCGA. «Недопредставленность» CTAG ранее наблюдалась только в ДНК некоторых бактерий и фагов. Ранее выявленная «недопредставленность» метилируемого димера CpG находит свое выражение в низкой концентрации TCGA в ДНК герпесвирусов.

**Цель работы** — продолжение анализа формальных характеристик герпесвирусных ДНК, а также сопоставление их с плотностью ДНК-микрогомологий вирус/хозяин и с геномной макроструктурой герпесвирусов.

**Материалы и методы.** Проанализированы по 20 штаммов и изолятов каждого из пяти типов вирусов герпеса человека (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 штаммов HHV8, 5 штаммов HHV6A, 4 штамма HHV6B и 3 штамма HHV7. Для определения частоты тетрануклеотидов использовали инструменты GenBank, а для сравнения — фрагменты ДНК человека размером с ДНК герпесвирусов.

**Результаты.** Минимальная концентрация CTAG в ДНК герпесвирусов в основном характерна для двух- и односегментных геномов с прямыми или инвертированными концевыми повторами (классов А, D и E),

**Results.** Minimum CTAG concentration in DNA of herpes viruses is mainly characteristic of two- and single-segment genomes with direct or inverted terminal repeats (classes A,D,E), while the minimum TCGA density is characteristic mainly for DNA that is significantly less structured (classes B,C,F). By increasing CTAG density, human herpes viruses form a sequence close to the sequence of increasing the homology density of 20 nt with human DNA, which also correlates with the macrostructure of DNA. A parallel of this minimization with the DNA structure of herpes viruses or with their belonging to one or another subfamily — as well as the context of the “minimal” CpG (that is, TCGA) — is not noted in the literature. Although herpesvirus DNA is quite large (125–295 Kb), some of them (for example, HHV4, HHV5 and HHV7 DNA) show noticeable deviations from the second DNA parity rule, and can thus serve as a component of the molecular signature. The **Discussion** suggests possible hypotheses for the origin of some of the observed phenomena.

**Keywords:** *Herpesvirus DNA; tetranucleotide profile; CTAG/TCGA deficiency; Chargaff Second Parity Rule.*

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Filatov F.P., Shargunov A.V. Tetranucleotide profile of herpesvirus DNA. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(3): 216–226. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97--3-3>

Received 22 April 2020  
 Accepted 25 May 2020

## Введение

Герпесвирусы семейства *Herpesviridae*, включая HHV, делятся на три подсемейства: альфа-HV, бета-HV и гамма-HV [1]. Другой классификацией HV является классификация по макроструктуре ДНК (рис. 1). Она не совсем совпадает с делением на подсемейства и, в соответствии с общепринятыми взглядами [2], образует 6 классов — от А до F.

Альфа-HHV (HHV1, HHV2 и HHV3), а также бета-HHV (HHV5) содержат двухсегментную ДНК; каждый сегмент ограничен взаимно инвертированными мономерными концевыми повторами TR<sub>1</sub> (ДНК классов D и E). ДНК HHV класса А (бета-HHV: HHV6А, HHV6В и HHV7) представляет собой несегментированную уникальную линейную последовательность, ограниченную прямыми мономерными концевыми повторами TR<sub>1</sub>, содержащими по два «островка» теломероподобных гексануклеотидов. Гамма-HHV содержат ДНК классов В и С, которые имеют уникальную последователь-

ность, ограниченную прямыми тандемно организованными короткими (т.е. не мономерными) повторами, TR<sub>2</sub>.

Сегменты и концевые повторы ДНК класса F не структурированы, хотя иногда они просто не показаны в GenBank. Существуют герпесвирусные ДНК с более экзотической макроструктурой (например, скутавирусы), но их очень немного. Данные, полученные нами в предлагаемой работе, позволили нам объединить классы А, D и E в одну группу (сегменты ДНК, ограниченные мономерными концевыми повторами), а В, С и F — в другую (отсутствие макроструктуры или нефиксированное число тандемно организованных коротких концевых повторов).

Ранее мы заметили, что молекулы ДНК герпесвируса и его хозяина содержат короткие (20–29 нт) идентичные последовательности — микрогомологии, концентрация которых не случайна и, как мы полагаем, объясняется длительными (в эво-

DNA macrostructure	class	TR	HHV	subfamily
	D	TR <sub>1</sub>	1/2, 5	alpha, beta
	E	TR <sub>1</sub>	3	alpha
	A	TR <sub>1</sub>	6A/B, 7	beta
	B	TR <sub>2</sub>	8	gamma
	C	TR <sub>2</sub>	4	gamma
	F	TR <sub>0</sub>	—	—

**Рис. 1.** Основные макроструктурные классы ДНК HHV (пропорции длин геномных фрагментов произвольны).

TR<sub>1</sub> — мономерные терминальные повторы (одиночные прямоугольники); TR<sub>2</sub> — тандемные повторы (с нефиксированным числом повторов); TR<sub>0</sub> — терминальных повторов нет. Группа BC[F] ДНК HHV выделена серым цветом.

**Fig. 1.** Basic macrostructural classes of HHV DNA (the proportions of the lengths of the genome fragments are arbitrary).

TR<sub>1</sub> — monomeric terminal repeats (single rectangles), TR<sub>2</sub> — tandem organized repeats (non-fixed number of repeats), TR<sub>0</sub> — no terminal repeats. BC[F] group of the HHV DNA (see text) is highlighted in gray.

viral genomes in which terminal repeats are mutually inverted may be blocked on themselves and interact less with host DNA. At the same time, single-segment ones having direct terminal repeats can be extended along the host DNA, which facilitates intergenomic interaction.

As an approach to analysis we used the comparison of nucleotide frequencies in DNA molecules and also the second Chargaff rule of parity, CPR2 [6], which becomes evident in DNA of more than 100,000 nt [7, 8]. CPR2 is formulated in the same way as the first one (CPR1), but refers to only one DNA strand. It has an approximate accuracy, which increases as the analyzed chain lengthens. It applies not only to mono- but also to oligonucleotides up to 10–15 nt — with a decrease in accuracy as the analyzed oligonucleotide lengthens [7, 9]. In metagenomics, tetranucleotide analysis is often used to form molecular signatures [10]. The frequency of tetranucleotides in the genomes of the herpes virus quite reliably corresponds to CPR2 and provides a more detailed characterization of DNA than mono-, di- and trinucleotides [7, 11]. In principle, the symmetries of the tetranucleotides of the herpes virus genome have been described previously [12], but they only confirmed the correspondence of CPR2. Our approach discovers other unusual properties of these genomes.

The **aim** of the study is to continue the analysis of the formal characteristics of herpesvirus DNA, as well as their comparison with the density of the virus/host DNA microhomology and with the genomic macrostructure of herpes viruses.

## Materials and Methods

We analyzed ~ 90% of the nucleotide sequences of full-sized viral DNA molecules of each genus of all three families of vertebrate and invertebrate herpes viruses contained in GenBank. After analyzing 20 strains and isolates of each of the five types of human herpes viruses (HHV1, HHV2, HHV3, HHV4, HHV5), 10 strains of HHV8, all 5 strains of HHV6A, all 4 strains of HHV6B and all 3 strains of HHV7, we were convinced of the practical identity of intraspecific results (especially expressed in percent) and therefore, we present in the tables data only on the DNA of the reference strains of each type of herpes viruses.

For comparison, we used human DNA with a length of 1.5 megatons (5 fragments of 300,000 nt each):

- fragment Chr 03 163229646–163529646;
- fragment Chr 05 29372672–29672672;
- fragment Chr 14 64016329–64316329;
- fragments of Chr 21 15306102–15606102 and 33931862–34231862.

To determine the frequency of tetranucleotides, we used GenBank tools.

## Results

We analyzed the tetranucleotide composition of the fully sequenced DNA of almost all herpes viruses of the *Herpesvirales* Order contained in the GenBank. The DNA type, that is GC (the predominance of G+C) or AT (the predominance of A+T) in one of its chains, does not give too much in this regard, dividing all HHVs into two groups according to the types:

- type AT — HHV3 (alfa) and HHV6A, 6B, 7 (beta);
- type GC — HHV1,2 (alfa), 5 (beta), and 4,8 (gamma).

However, dinucleotide analysis illustrates well CPR2 [13], according to which  $A \approx T$ ,  $C \approx G$ ,  $C+T \approx A+G$  and  $C+A \approx T+G$  for one DNA strand. This is determined by the size of herpesvirus DNA — from 125 to 295 Kb.

The total number of tetranucleotides is 256 ( $4^4$ ). To avoid the influence of a type of DNA on the results, which was shown previously [13, 14], we analyzed only tetranucleotides containing all four different bases, 4TNs. In HHV1 DNA (type GC), the smallest (“underrepresented”) is precisely such a tetranucleotide — CTAG (91 nt for the whole genome instead of ~600 nt in case of equal representation of all tetramers in the genome). In HHV6A DNA (type AT), the CTAG number is also close to the smallest (303 nt) among all tetramers and is the smallest of the tetranucleotides containing all four different bases. Only four tetramers, GGGC (245), ACCG (287), GGCC (288) and GGCT (296), are smaller — according to the type of DNA.

Of the 256 tetranucleotides, only 24 consist of all four nucleotides ( $P_4=4!=24$ ). These 24, in turn, are divided into two groups: 8 of them (octet A) do not change during inversion, for example, CTAG|CTAG, the rest 16 (two octets B) are pairs B1 and B2 of mutually inverted non-identical tetranucleotides, for example, CTAG|TCAG. The tables and figures of octets A and B are shown separately. For correct comparison, the data are presented as a percentage of the sum of the frequencies of the tetranucleotides of each octets A and B. **Table 1** compares the data for all 24 discussed tetranucleotides for all known types of control strains of human herpes virus. **Table 1** shows that CTAG is “underrepresented” in the genomes of all HHVs, with the exception of HHV7. In HHV4 DNA, the TCGA tetramer is even more underrepresented (as in the human genome).

In accordance with the decrease in the “underrepresentation” of CTAG, the HHV genomes form a sequence that resembles the sequence of DNA microhomology virus/host by increasing their number (**Fig. 2**): the greatest “underrepresentation” of CTAG is characteristic of two-segment DNA, the smallest — for single-segment.

At the same time, the DNA of each HHV contains noticeably “overrepresented” tetranucleotides, which are also characteristic of the genomes of a certain mac-

rostructure: ACGT for two-segment DNA (classes D, E), TGCA for one-segment (class A, roseoloviruses) and CATG for one-segment (classes B, C). However, since the DNA of non-human herpes viruses is very poorly represented by host species in the GenBank, we did not further analyze the “maximum” tetranucleotides.

The columns of numbers related to the DNA of each virus are tetranucleotide DNA profiles, and they — in the case of HHV4, 8 and 7 — show a certain similarity with the profile of human DNA. In some cases (HHV4, 5, 7), octet B tetranucleotides presented in pairs (B1 and B2) demonstrate characteristic devia-

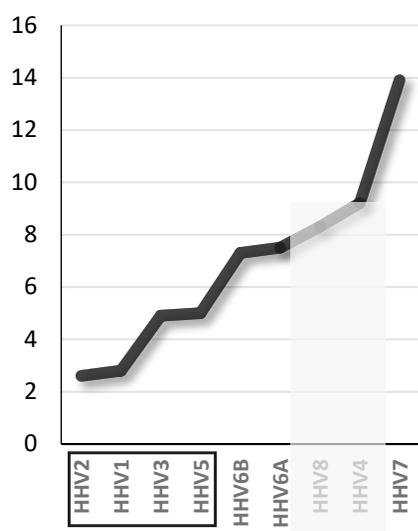
tions from CPR2, which probably are associated with an insufficient DNA length of these viruses (HHV4,5) or with an insufficient number of strains in the GenBank, which do not provide sufficient reliability of the relevant data. The positive side of deviations from CPR2 is that they can be used as components of the molecular signatures of these viruses.

It is noteworthy that the difference between the maximum and minimum values in octet A is much larger, that is, more obvious than in octets B. In cases where the minimum density indices of tetranucleotides of octets B are less than octet A, their "underrepresentation" is directly related to type of DNA, that is, they have

**Table 1.** Profile of identical (octet A) and non-identical (octets B1 and B2) tetramers containing four different nucleotides (4TN) of eight types of HHV (reference strains), expressed as a percentage of the total number of the octets A and B separately

HHV	1	2	3	5	6A	6B	7	4	8	4TN Human
subfamily	alpha			beta			gamma			
TR	$TR_1$						$TR_2$			
<i>4TN octet A</i>										
<b>CTAG</b>	2,8	2,6	4,9	5,0	7,5	7,3	13,9	9,2	8,3	12,2
<b>TCGA</b>	14,5	15,1	10,6	10,9	15,0	14,7	9,1	6,6	8,6	2,4
AGCT	12,7	13,7	8,2	11,2	10,3	11,2	17,7	18,4	15,1	18,9
GATC	13,2	13,5	12,9	11,6	13,6	14,0	10,8	10,3	10,0	11,4
CATG	15,1	13,1	15,7	13,7	13,8	14,4	14,1	19,6	16,2	21,6
TGCA	11,2	11,7	15,6	12,6	15,0	14,9	17,9	17,9	15,9	22,3
<b>ACGT</b>	16,9	17,5	18,7	20,9	14,8	14,1	8,1	9,6	13,7	3,0
GTAC	13,6	12,8	13,4	14,1	10,0	9,4	8,4	8,4	12,2	8,2
<i>4TN octet B1</i>										
CTGA	5,3	5,4	3,9	5,9	6,9	7,1	7,6	8,9	7,4	11,2
<b>TACG</b>	7,2	7,0	8,3	7,6	5,9	5,3	3,4	2,6	4,8	1,0
GCAT	7,2	6,8	8,5	5,3	6,8	6,8	7,3	7,6	6,6	7,6
AGTC	5,5	5,4	4,3	5,9	5,7	5,7	5,9	7,9	5,8	6,3
CAGT	5,2	4,6	6,1	5,9	6,0	6,3	7,8	8,9	8,0	9,6
<b>ATCG</b>	8,2	7,5	8,3	6,5	7,7	7,2	4,9	3,0	4,5	1,1
GCTA	3,4	3,2	4,4	4,4	4,1	4,0	4,9	4,8	5,1	6,3
TGAC	6,9	7,1	5,7	8,0	6,5	6,6	6,9	8,2	8,0	6,7
<i>4TNs octet B2</i>										
TCAG	6,3	6,0	4,9	6,0	6,7	7,3	7,9	10,6	7,3	10,9
<b>CGTA</b>	7,5	8,0	7,9	7,7	6,1	6,0	4,0	3,3	4,7	1,0
ATGC	7,7	8,8	8,1	5,6	6,1	6,7	7,5	7,0	6,7	7,5
GA CT	5,0	5,7	5,2	5,0	5,4	5,7	4,9	5,4	6,3	6,7
ACTG	5,0	4,5	6,3	5,9	6,9	6,7	7,3	6,2	8,7	10,0
<b>CGAT</b>	7,2	6,8	8,5	5,3	6,8	6,8	5,0	3,0	6,6	1,1
TAGC	3,7	3,1	4,7	5,2	5,3	5,1	7,8	4,8	4,4	6,3
GTCA	7,6	7,2	5,6	8,3	6,6	6,2	6,9	8,4	7,7	6,7

**Note.** Bold letters are tetramers CTAG and dimers CpG in the tetramers discussed in text (corresponding cells of the both octets are highlighted in gray).



**Fig. 2.** Frequency (%) of CTAG among other 4TNs of the octet A in human herpes virus DNA

HHV4 and HHV8 (BC[F] DNA classes) are marked in gray. In the rectangle there are four HHVs of DE classes.

the format [TA/AT|GC/CG]; the left and right tetramer pairs can be swapped, and the “/” means “or”. There are 8 such tetranucleotides, but for use — together with other tetramers — as molecular signatures, their involvement in the formation of a DNA type does not matter. **Table 2** summarizes the data on the minimum (underrepresented) tetranucleotides of HHV DNA.

Next, we carried out a tetranucleotide analysis of completely sequenced DNAs of almost all other viruses of the Herpesvirales Superfamily of the GenBank NCBI. The data obtained are summarized in **Table 3**.

Table 3 shows that all herpesviruses are divided into two groups according two main underrepresented tetranucleotides — CTAG or TGCA. The difference between the two groups is parallel to their genomic macrostructure. Minimum CTAG (CTAGmin) is char-

acteristic of structured DNA classes ADE, with large monomeric terminal repeats, TR<sub>1</sub>, TCGAmin is characteristic of less strictly structured DNA classes BCF with non-fixed tandem terminal repeats, TR<sub>2</sub>.

### Discussion

The “underrepresentation” of CTAG tetranucleotide (CTAGmin) in the genomes of *Escherichia* and *Salmonella*, as well as some phages, has been known for quite some time [15] and continues to be studied [16]. For the first time, we systematically note here this feature for one of two large groups of herpesviruses and its parallel with their genomic structure. The larger group (ADE) is characterized by the presence of one or two segments bounded by TR<sub>1</sub> monomeric terminal repeats, direct or mutually inverted. A smaller group of herpesviruses (BC[F]) contains a single-segment genome, limited by an undetermined number of tandem organized direct terminal repeats, TR<sub>2</sub>, and is characterized by the “underrepresentation” of another tetranucleotide, TCGA. The more general nature of the CTAG|ADE and TCGA|BC[F] parallels among animal viruses can be evidenced by the “underrepresentation” of CTAG beyond the *Herpesvirales*, in particular in the DNA of African swine fever viruses (*Asfarviridae*) and Shope rabbit fibromas (*Poxviridae*), structured similarly to the herpes viruses ADE. At the same time, the genomes of the smallpox and smallpox vaccines (*Poxviridae*) viruses are not structured in this way, and there is no “underrepresentation” of CTAG in them. These observations require serious expansion of the studies under discussion in other taxonomic groups of animal viruses.

An analysis of a series of strains (mainly up to 20) of the same type of HHV showed almost complete identity of the results, which, to a first approximation, allowed us to consider the results obtained quite reliable.

**Table 2.** A generalized version of the data on the human herpesviruses DNA (family *Herpesviridae*)

Subfamily	Genus	Species	Reference	Size of the DNA, Kb	Class	Type	4TN <sub>min</sub>	Number of studied strains
alpha	Herpes simplex virus	HHV1	NC_001806	155	E	GC	CTAG	20
	Herpes simplex virus	HHV2	NC_001798	155	E	GC	CTAG	20
	Varicella-Zoster virus	HHV3	NC_001348	125	D	AT	CTAG	20
beta	Cytomegalovirus	HHV5	NC_006273	236	E	GC	CTAG	20
	Roseoloviruses	HHV6A	NC_001664	159	A	AT	CTAG	5
		HHV6B	NC_000898	162	A	AT	CTAG	4
		HHV7	NC_001716	153	A	AT	<b>ACGT</b>	3
gamma	Lymphocryptovirus	HHV4	NC_007605	172	C	GC	<b>TCGA</b>	20
	Rhadinovirus	HHV8	NC_009333	138	B	GC	CTAG	10

**Note.** Non-CTAG<sub>min</sub> DNAs are highlighted in italics (CpG — in bold italics). HHVs in the DNA with CpG>GpC are highlighted in gray.

**Table 3.** A generalized version of the data on the DNA of animal herpesviruses (families *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae* and *Malacoherpesviridae*)

Subfamily	Genus	Species	Reference	Size of the DNA, Kb	Class	Type	4TN <sub>min</sub>	
<b>Family: <i>Herpesviridae</i> (animal HV)</b>								
alpha	Iltovirus	Gallid AHV1	NC_006623	149	D	AT	CTAG	
		Psittacid AHV1	NC_005264	163	D	GC	CTAG	
	Mardivirus	Anatid AHV1	NC_013036	158	F	AT	CTAG	
		Columbid AHV1	NC_034266	204	E	GC	CTAG	
		Falconid AHV1	NC_024450	204	E	GC	CTAG	
		Gallid AHV2	NC_002229	178	E	AT	CTAG	
		Gallid AHV2	MF431495	178	E	AT	CTAG	
		Gallid AHV3	NC_002577	164	E	GC	CTAG	
		Meleagrid AHV1	NC_002641	159	E	AT	CTAG	
		Sphenicid AHV1	NC_033464	165	D	AT	CTAG	
		Scutavirus	Testudinid HV3	NC_002794	196	D*	AT	TGCA
		Simplex virus	Ateline AHV1	NC_034446	147	D	GC	CTAG
	Cercopithecine AHV2		NC_006560	151	E	GC	CTAG	
	Panine HV3		NC_023677	153	E	GC	CTAG	
	Leporide AHV4		NC_029311	124	E	GC	CTAG	
	Macacine AHV1		NC_004812	157	E	GC	CTAG	
	Macropodid AHV1		NC_029132	140	D	GC	CTAG	
	Papiine AHV2		NC_007453	156	E	GC	CTAG	
	Saimiriine AHV1		NC_014567	157	D	GC	TGCA	
	Fruit bat AHV1		NC_024306	149	E	GC	GTAC	
	Varicella virus		Bovine AHV1	NC_001847	135	D	GC	CTAG
			Bovine AHV5	NC_005261	138	F	GC	CTAG
			Bubaline AHV1	NC_043054	137	F	GC	CTAG
			Cercopithecine AHV9	NC_002686	125	D	AT	CTAG
			Equid AHV3	NC_024771	184	E	GC	CTAG
			Suid AHV1	NC_006151	143	D	GC	CTAG
			Canid AHV1	NC_030117	125	D	AT	TCGA
			Equid AHV4	NC_001844	146	D	GC	TCGA
			Felid AHV1	NC_013590	136	D	AT	TCGA
		Equid AHV1	NC_001491	150	D	GC	GATC	
Equid AHV8	NC_017826	149	F	GC	GATC			
Equid AHV9	NC_011644	148	D	GC	GATC			
beta	Cytomegalovirus	Aotine BHV1	NC_016447	219	E	GC	CTAG	
		Caviid BHV2	NC_020231	234	A	GC	CTAG	
		Cercopithecine BHV5	NC_012783	226	A	GC	CTAG	
		Papio ursinus CMV	NC_027016	226	F	GC	CTAG	
		Cynomolgus CMV	NC_033176	224	A	AT	CTAG	
		Macacine BHV3	NC_006150	221	F	AT	CTAG	
		Panine BHV2	NC_003521	241	D	GC	CTAG	
		Saimiriine BHV4	NC_016448	197	E	AT	CTAG	

End of Table 3

Subfamily	Genus	Species	Reference	Size of the DNA, Kb	Class	Type	4TN <sub>min</sub>
gamma	Muromegalovirus	Murid BHV1	NC_004065	230	F	GC	CTAG
		Murid BHV8	NC_019559	203	F	AT	CTAG
	Proboscivirus	Rat CMV Maastricht	NC_002512	230	A	GC	CTAG
		Elephant BHV4	NC_028379	206	F	GC	CTAG
		Elephant BHV5	NC_024696	181	A	AT	CTAG
		Elephantid BHV1	NC_020474	180	A	AT	CTAG
		Roseolovirus	Murine roseolovirus	NC_033620	174	F	AT
	Macavirus	Macaca nemestrina	NC_030200	137	A	AT	CTAG
		Suid BHV2	NC_022233	128	A	AT	CTAG
		Alcelaphine GHV1	NC_002531	131	F	AT	TCGA
	Percavirus	Alcelaphine GHV2	NC_024382	137	F	AT	TCGA
		Bovine GHV6	NC_024303	145	F	AT	TCGA
		Ovine GHV2	NC_007646	135	F	AT	TCGA
		Felis catus GHV1	NC_028099	123	F	AT	TCGA
	Rhadinivirus	Equid GHV5	NC_026421	182	B	GC	TCGA
		Equid GHV2	NC_001650	184	A	GC	TCGA
		Ateline GHV3	NC_001987	108	F	AT	TCGA
		Cricetid GHV2	NC_015049	124	F	AT	TCGA
		Murid GHV4	NC_001826	119	F	AT	TCGA
		Saimiriine GHV2	NC_001350	113	F	AT	TCGA
	Lymphocryptovirus	Dolphin GHV1	NC_035117	167	F	AT	CTAG
		Macacine GHV5	NC_003401	134	F	GC	CTAG
		Callitrichine GHV3	NC_004367	150	F	AT	TCGA
Macacine GHV4		NC_006146	171	F	GC	TCGA	
Unclassified gamma	Rhinolophus GHV1	NC_040539	148	A	AT	TCGA	
Unclassified gamma	Eptesicus fuscus GHV	NC_040615	167	F	GC	CTAG	
<b>Family: <i>Alloherpesviridae</i> (pisces and amphibia HV)</b>							
Cyprinivirus	Anguillid HV1	NC_013668	249	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV2	NC_019495	290	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV3	NC_009127	295	A	GC	CTAG	
	Cyprinid HV1	NC_019491	291	A	GC	TCGA	
Ictalurivirus	Ictalurid HV1	NC_001493	134	F	GC	CTAG	
	Ictalurid HV2	NC_036579	143	A	GC	CTAG	
Batrachovirus	Ranid HV1	NC_008211	221	A	GC	CTAG	
	Ranid HV2	NC_008210	232	A	GC	CTAG	
<b>Family: <i>Malacoherpesviridae</i> (invertebrates HV)</b>							
Aurivirus	Haliotid HV1	NC_018874	212	E	AT	CTAG	
Ostreavirus	Ostreid HV1	NC_005881	207	F	AT	CTAG	
<b>Unclassified <i>Herpesvirales</i></b>							
Unclassified	Bufonid HV1	NC_040681	158	F	AT	TCGA	

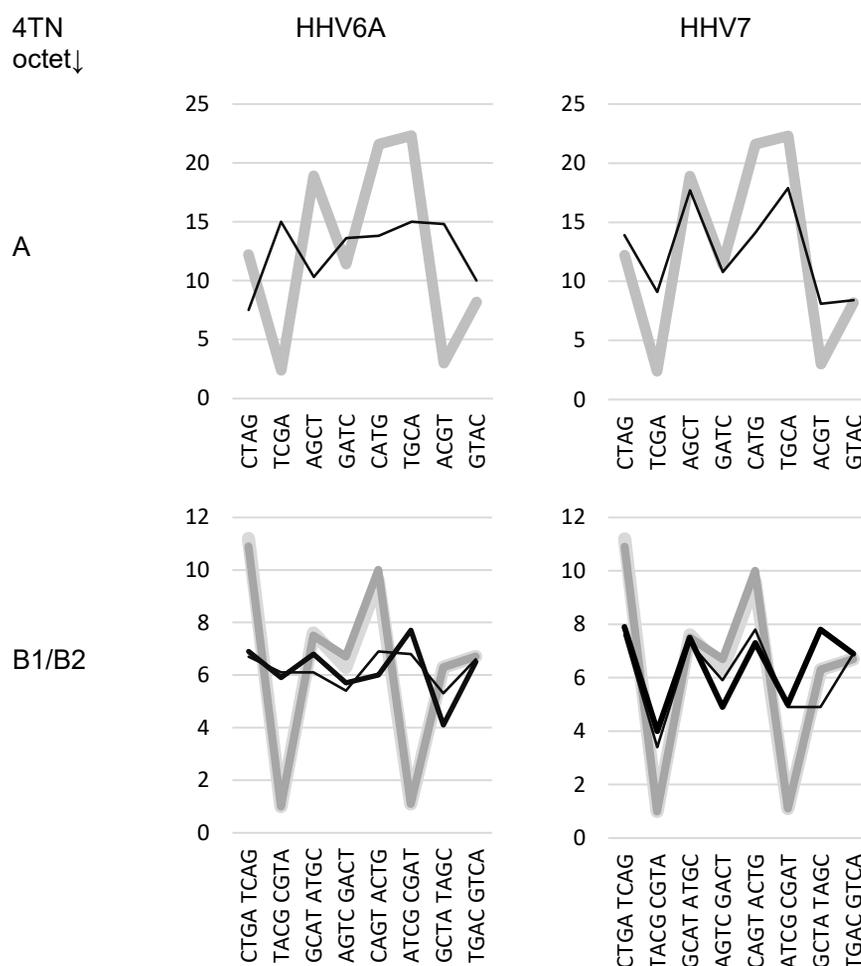
**Note.** Gray cells — BC [F] class DNA and “minimal” non-CTAG TN. Asterix in D\* denotes the unusual macrostructure of the testudinid HV3 DNA, in which two approximately equal segments bounded by terminal repeats are separated by a short unique sequence.

The thermodynamic model of RNA shows that the tetramer CTAG(CUAG) violates the optimal structure of the stem loops of the molecule, which control the expression of genes, increasing their free energy. The authors of this hypothesis [15] suggested that the common ancestor of *Salmonella* and *Escherichia* had a significantly higher CTAG density, but evolutionary degeneration led to the replacement of CTAG in its descendants with a tetranucleotides neutral in this respect, and this trend is currently maintained. In a number of genes and in intergenic spaces in *Escherichia* and *Salmonella*, the indicated degeneracy led to the evolutionary replacement of CTAG, primarily with CTGG (to a lesser extent with ATAG, CTTT, CTTG).

In this regard, it is most appropriate to compare phylogenetically related (p.e. the same genus) human roseoloviruses HHV6 and HHV7. In the DNA of both viruses — compared with other herpes viruses — the frequencies of CTAG and CTGG are most different. The comparison shows that if in HHV7 (NC\_001716) the frequency ratio CTAG/CTGG is 530:301, respectively, then in HHV6A (NC\_001664) it is even the op-

posite and is 303:391 with close DNA sizes of both viruses. If the LeTang et al. [16] observation is also applicable to herpesviruses, then HHV7 is obviously closer to the evolutionary predecessor of both roseoloviruses than HHV6, in which many CTAG was replaced by CTGG. At the same time, HHV6 acquired the ability to integrate its genome into the host genome, which is not, as a rule, a prerequisite for closer relations with the host DNA, as evidenced by the similarity of the profile of the HHV7 tetranucleotide (not HHV6) and human DNA (Fig. 3), as well as a higher level of virus/host DNA microhomology in HHV7 than in HHV6, or a lower level of such microhomology in mardiviruses with pronounced telomeric islands in terminal repeats of DNA segments.

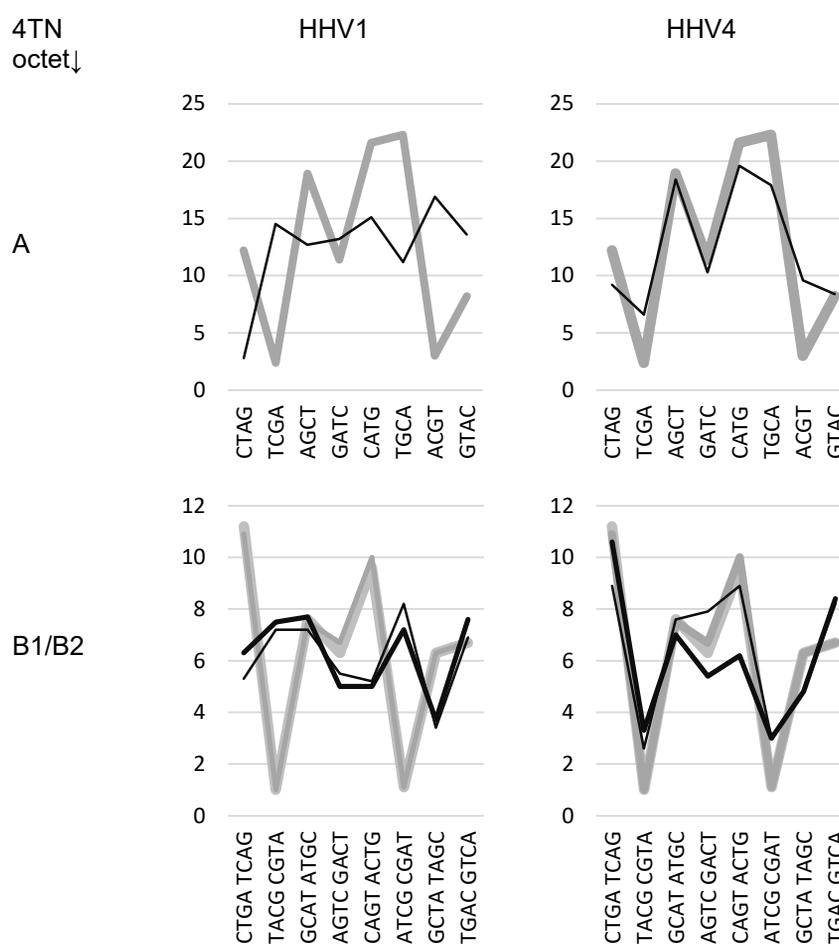
In Figure 3 some features of the analyzed 4TN profiles are additionally indicated. In accordance with the Second DNA Parity Rule, the similarity between B1 and B2 in human DNA is much greater (than in virus ones), since the fragments of human DNA we have analyzed are 300 Kb long, and the HPV genomes are much shorter. In HHV7, the differences between B1 and B2



**Fig. 3.** 4TN profile of HHV6A and HHV7 DNA compared to human DNA 4TN profile.

Octet A: human DNA is highlighted in gray, viral DNA — in black.

Octet B: human B1 is highlighted in light gray, human B2 is highlighted in dark gray, virus B1 is highlighted in bold black, B2 — in thin black.



**Fig. 4.** 4TN profile of HHV1 and HHV4 DNA compared to human DNA 4TN profile.

Octet A: human DNA is highlighted in gray, viral DNA — in black.

Octet B: human B1 is highlighted in light gray, human B2 is highlighted in dark gray, virus B1 is highlighted in bold black, B2 — in thin black.

are characteristic enough and may be used as an element of the molecular signature of the DNA of this virus (the same applies to the 4TN HHV4 profile, see **Figure 4** below). The fact that GenBank represents the complete (almost complete) DNA sequences of only three HHV7 strains allows the use of statistical methods to validate the data presented here with great reservations. For this reason, we did not use these methods here, noting only that today it looks like a fact.

**Figure 4** compares the 4TN DNA profile of another pair of viruses, HHV1 and HHV4. In the case of HHV1, a low content of CTAG allows the virus to cause an acute productive infection and accumulate in the cells of the entrance gate (fibroblasts), and then go into neurons, where it will remain for life — in particular, due to the inhibitory effect of host epigenetic mechanisms, one of which is methylation viral DNA. The concentration of CpG dinucleotides in the genome of HHV1 exceeds the average value, **Table 1**.

Low levels of CTAG can play a role in exacerbating latent infections. In the case of HHV4, the primary lytic infection is not characterized by a high level of

viral syntheses, and after the transition to the chronic phase it is also regulated by epigenetic tools, including methylation C in CpG [17, 19]. At the same time, the obvious proximity of the 4TN profiles of the genome of HHV4 and the host indicate a similar response to these tools. The same can be said about HHV8 and the epigenetic regulation of its genes [20, 21]. Of the many epigenetic mechanisms that modify the expression of viral and host genes, we consider here only DNA methylation, more precisely, cytosine methylation in CpG, since this dimer is part of 4TN (TCGA), which allows it to be compared with another tetramer, CTAG, in proposed here aspect.

The hypothesis of a low density of CTAG tetramer due to its evolutionary degeneration does not explain the obvious limitations of its use and does not at all concern the reasons for the low density of another tetramer of octet A, TCGA, in the DNA of the members of the same superfamily. About 40% of CpG, the central pair of this tetramer, is located in the promoter zones of mammals [21, 22] and has a much lower density in complete sequences of vertebrate genomes than

might be expected [23, 24]. This underrepresentation is a consequence of the high frequency of mutations of methylated CpG sites in the genomes of hosts and their viruses, especially of those that interact closely with host DNA.

The reasons for the lowered CpG content were repeatedly discussed before [25], however, the issue is not the low density of CpG, but rather the context of this pair, i.e. in the TCGA, since this tetramer is present in herpesvirus DNA in a much lower concentration than ACGT.

Data from Le Tang et al. [16] show that the minimum content of CTAG (and TCGA) alone is not limited to herpesvirus DNA. We analyzed the tetranucleotide profile of large DNAs together with terminal repeats of some other viruses. CTAG was found to be “minimal” in African swine fever viruses (*Asfarviridae* family) and Shope fibroma virus (*Poxviridae* family), but not in smallpox and vaccinia viruses (also in the *Poxviridae* family), whose DNA does not have terminal repeats. This means that when constructing phylogenetic trees, it is necessary to take into account not only changes in genes and proteins, but also the evolution of the DNA molecule, including its characteristics discussed here.

In a first approximation, to analyze the density of potentially methylated cytosine in the herpesvirus genomes, it suffices to estimate the CpG:GpC ratio, which is not related to the genome type (AT or GC). This estimate is shown in **Table 2**: HHV DNA with CpG>GpC (darkened cells). In this case, the results presented here would concern only the concentration and the ratio CTAG/CpG in herpesvirus DNA, which may affect the level of viral synthesis. In its most general (non-strict) form, this ratio has a mirror character: the lowest concentration of CTAG is accompanied by the highest concentration of CpG (**Table 1**) — at least within the framework of the groups of classes ADE, BC[F]. Nevertheless, the ratio CTAG/CpG depletes our results, which indicate a difference in the tetranucleotide profile of herpesvirus DNA, specifying this ratio to CTAG/TCGA. In other words, the component of this ratio is the ratio of TCGA/ACGT, clearly expressed in the framework of the classes DE/A/BC[F], **Table 1**. In turn, this means the need to take into account the context that determines the functional value of the CpG dimer. Perhaps this context goes beyond the tetramer. But for reliable conclusions, it is necessary to expand the research beyond the scope of herpesviruses and seriously enrich GenBank with new complete viral DNA sequences. But in any case, the results demonstrated by us here indicate that the biological meaning of the macrostructure of herpesvirus DNA is much deeper than is commonly believed.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Whitley R., Kimberlin D., Prober C. Pathogenesis and disease. In: Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarsky E., Moore P.S.,

- Roizman B., Whitley R., eds. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis. Chapter 32*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
2. Pellett P., Roizman B. Herpesviridae. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013: 1802-2.
3. Zabolotneva A., Tkachev V., Filatov F., Buzdin A. How many antiviral small interfering RNAs may be encoded by the mammalian genomes? *Biol. Direct*. 2010; 5: 62. DOI: <http://doi.org/10.1186/1745-6150-5-62>
4. Filatov F., Shargunov A. Short nucleotide sequences in herpesviral genomes identical to the human DNA. *J. Theor. Biol.* 2015; 372: 12-21. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.02.019>
5. Filatov F., Shargunov A. Microhomology of Viral/Host DNAs and macrostructure of herpesviral genome. *Int. J. Virol. AIDS*. 2018; 5(1): 042. DOI: <http://doi.org/10.23937/2469-567X/1510042>
6. Rudner R., Karkas J.D., Chargaff E. Separation of B. subtilis DNA into complementary strands, 3. Direct Analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1968; 60(3): 921-2. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.60.3.921>
7. Forsdyke D.R. Symmetry observations in long nucleotide sequences: a commentary on the discovery note of Qi and Cuticchia. *Bioinformatics*. 2002; 18(1): 215-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.1.215>
8. Albrecht-Buehler G. Asymptotically increasing compliance of genomes with Chargaff's second parity rules through inversions and inverted transpositions. Version 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103(47): 17828-33. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0605553103>
9. Baisnee P.F., Hampson S., Baldi P. Why are complementary strands symmetric? *Bioinformatics*. 2002; 18(8): 1021-33. DOI: <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.8.1021>
10. Gori F., Mavroeidis D., Jetten M.S.M., Marchiori E. The importance of Chargaff's second parity rule for genomic signatures in metagenomics. Available at: <http://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2017/06/04/146001.full.pdf>
11. Pride D.T., Blaser M.J. Identification of horizontally acquired genetic elements in *Helicobacter pylori* and other prokaryotes using oligonucleotide difference analysis. *Genome Lett.* 2002; 1(1): 2-15. DOI: <http://doi.org/doi.org/10.1166/gl.2002.003>
12. Prabhu V.V. Symmetry observations in long nucleotide sequences. *Nucleic Acids Res.* 1993; 21(12): 2797-800. DOI: <http://doi.org/10.1093/nar/21.12.2797>
13. Albrecht-Buehler G. The three classes of triplet profiles of natural genomes. *Genomics*. 2007; 89(5): 596-601. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.12.009>
14. Zhang S.H., Wang L. A novel common triplet profile for GC-rich prokaryotic genomes. *Genomics*. 2011; 97(5): 330-1. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2011.02.005>
15. Burge C., Campbell A.M., Karlin S. Over- and under-representation of short oligonucleotides in DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992; 89(4): 1358-62. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.89.4.1358>
16. Tang L., Zhu S., Mastriani E., Fang X., Zhou Y.J., Li Y.G., et al. Conserved intergenic sequences revealed by CTAG-profiling in Salmonella: thermodynamic modeling for function prediction. *Sci. Rep.* 2017; 7: 43565. DOI: <http://doi.org/10.1038/srep43565>
17. Bhende P.M., Seaman W.T., Delecluse H.J., Kenney S.C. The EBV lytic switch protein, Z, preferentially binds to and activates the methylated viral genome. *Nat. Genet.* 2004; 36(10): 1099-104. DOI: <http://doi.org/10.1038/ng1424>
18. Kaufer B.B., Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr. Opin. Virol.* 2014; 9: 111-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.09.010>

19. Woellmer A., Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus and host cell methylation: regulation of latency, replication and virus reactivation. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(3): 260-5.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.coviro.2013.03.005>
20. Lim C., Lee D., Seo T., Choi C., Choe J. Latency associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus functionally interacts with heterochromatin protein 1. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(9): 7397-405.  
DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M211912200>
21. Pantry S.N., Medveczky P.G. Epigenetic regulation of Kaposhi's sarcoma associated herpesvirus replication. *Semin. Cancer Biol.* 2009; 19(3): 153-7.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.semcancer.2009.02.010>
22. Fatemi M., Pao M.M., Jeong S., Gal-Yam E.N., Egger G., Weisenberger D.J., et al. Footprinting of mammalian promoters: use of a CpG DNA methyltransferase revealing nucleosome positions at a single molecule level. *Nucleic. Acids Res.* 2005; 33(20): e176.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/nar/gni180>
23. Lander E.S., Linton L.M., Birren B., Nusbaum C., Zody M.C., Baldwin J., et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001; 409(6822): 860-921.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/35057062>
24. Stevens M., Cheng J., Li D., Xi M., Hong C., Maire C., et al. Estimating absolute methylation levels at single-CpG resolution from methylation enrichment and restriction enzyme sequencing methods. *Genome Res.* 2013; 23(9): 1541-53.  
DOI: <http://doi.org/10.1101/gr.152231.112>
25. Nicholas J. Evolutionary aspects of oncogenic herpesviruses. *Mol. Pathol.* 2000; 53(5): 222-37.  
DOI: <http://doi.org/10.1136/mp.53.5.222>

**Information about the authors:**

**Felix P. Filatov**<sup>✉</sup> — PhD (Med.), D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of molecular biotechnology, Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia; leading researcher, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 123098, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>.  
E-mail: [felix001@gmail.com](mailto:felix001@gmail.com)

**Alexander V. Shargunov** — leading engineer, Laboratory of DNA-containing viruses genetics, Mechnikov Federal Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5536-1557>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

**Информация об авторах:**

**Филатов Феликс Петрович**<sup>✉</sup> — к.м.н., д.б.н., в.н.с. лаб. молекулярной биотехнологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>.  
E-mail: [felix001@gmail.com](mailto:felix001@gmail.com)

**Шаргунов Александр Валерьевич** — ведущий инженер, лаб. генетики ДНК-содержащих вирусов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, 105064, Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5536-1557>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.



## Индикация и идентификация вирусов денге и Чикунгунья в комарах рода *Aedes spp.*, отловленных в Центральной Америке

Игнатъев Г.М.<sup>1✉</sup>, Каа К.В.<sup>1</sup>, Оксанич А.С.<sup>3</sup>, Антонова Л.П.<sup>1</sup>, Самарцева Т.Г.<sup>2</sup>, Мефед К.М.<sup>1</sup>, Яковлева Д.А.<sup>2</sup>, Жиренкина Е.Н.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный научный центр исследования и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова», 108819, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ЗАО БТК «Биосервис», 249010, Боровск, Россия;

<sup>4</sup>ФГУП «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» ФМБА России, 198320, Санкт-Петербург, Россия

**Целью** работы было выделение арбовирусов из комаров различных видов в культуре клеток и их идентификация молекулярными и иммунохимическими методами.

**Материалы и методы.** Выделение вирусов проводилось на клетках C6/36. Возбудителей идентифицировали с использованием наборов для иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления антигенов вирусов денге, Чикунгунья, ВЗН и Синдбис и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) со специфическими праймерами с последующим секвенированием по Сенгеру.

**Результаты.** Всего было исследовано 102 комара, относящихся к трем родам: *Culex spp.*, *Culiseta spp.*, *Aedes spp.* Комары каждого вида или рода были разделены на пулы по 4–5 особей. При исследовании суспензий только 2 пулов комаров, полученных от *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*, начиная с 3-го пассажа отмечены изменения монослоя клеток C6/36. В материалах суспензии, полученной из пула *Aedes albopictus*, начиная с 4-го пассажа методом ИФА выявлялся антиген вируса Чикунгунья. В материалах, полученных из пула *Aedes aegypti*, на 5-м пассаже определялся вирус денге. Таким образом, только в 2 из 23 исследованных пулов комаров разных родов определялись антигены вирусов Чикунгунья или денге. Материалы 5-го пассажа были исследованы в ОТ-ПЦР со специфическими праймерами к вирусам денге и Чикунгунья. Подтверждено, что изолят, полученный от комаров *Aedes albopictus*, содержал РНК вируса Чикунгунья и соответствовал Восточному/Центральному/Южно-Африканскому генотипу, а изолят, полученный от комаров *Aedes aegypti*, содержал РНК вируса денге 2-го типа.

**Заключение.** Полученные нуклеотидные последовательности вируса Чикунгунья были депонированы в международной базе данных GenBank под номерами MN271691 и MN271692.

**Ключевые слова:** арбовирусы; денге; Чикунгунья; комары; *Aedes spp.*; идентификация; ИФА; ПЦР; секвенирование.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01525).

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

**Для цитирования:** Игнатъев Г.М., Каа К.В., Оксанич А.С., Антонова Л.П., Самарцева Т.Г., Мефед К.М., Яковлева Д.А., Жиренкина Е.Н. Индикация и идентификация вирусов денге и Чикунгунья в комарах рода *Aedes spp.*, отловленных в Центральной Америке. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 227–232.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-4>

Поступила 27.01.2020  
Принята в печать 09.02.2020

## Indication and Identification of Dengue and Chikungunya Viruses in *Aedes spp.* Mosquitoes Captured in Central America

Georgy M. Ignatyev<sup>1✉</sup>, Konstantin V. Kaa<sup>1</sup>, Alexey S. Oksanich<sup>3</sup>, Lilya P. Antonova<sup>1</sup>, Tatyana G. Samartseva<sup>2</sup>, Kirill M. Mefed<sup>1</sup>, Dinora A. Yakovleva<sup>2</sup>, Ekaterina N. Zhirenkina<sup>4</sup>

<sup>1</sup>M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Preparations, Moscow, 108819, Russia;

<sup>2</sup>Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, 105064, Russia;

<sup>3</sup>"Bioservice" Biotechnology Company, Borovsk, 249010, Russia;

<sup>4</sup>St. Petersburg Vaccine and Sera Research Institute, Saint Petersburg, 198320, Russia

**The purpose** of study was to isolate arboviruses from mosquitoes of different species in the cell culture and to identify them by using molecular and immunochemical techniques.

**Materials and methods.** Viruses were isolated in C6/36 cell cultures. The pathogens were identified by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits for detection of antigens of dengue, Chikungunya, West Nile and Sindbis viruses as well as the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) with specific primers and Sanger sequencing.

**Results.** A total of 102 mosquitoes belonging to three genera, *Culex spp.*, *Culiseta spp.*, *Aedes spp.*, were studied. Mosquitoes of each species or genus were divided into pools, each containing 4–5 mosquitoes. The study of suspensions of only 2 mosquito pools obtained from *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, starting from the 3<sup>rd</sup> passage, showed changes in the C6/36 cell monolayer. Starting from the 4<sup>th</sup> passage, an antigen of Chikungunya virus was detected using ELISA test in the suspension obtained from the *Aedes albopictus* pool. Dengue virus was detected in the 5<sup>th</sup> passage from the materials obtained from the *Aedes aegypti* pool. Thus, antigens of the Chikungunya and dengue viruses were detected only in 2 of 23 examined pools of mosquitoes of different genera. Materials of the 5<sup>th</sup> passage were analyzed by RT-PCR with specific primers for dengue and Chikungunya viruses. It was confirmed that the isolate obtained from *Aedes albopictus* mosquitoes contained RNA of the Chikungunya virus and corresponded to the East/Central/South African genotype, while the isolate obtained from *Aedes aegypti* mosquitoes contained RNA of the dengue type 2 virus.

**Conclusion.** The obtained nucleotide sequences of the Chikungunya virus were deposited in the GenBank international database under accession numbers MN271691 and MN271692.

**Keywords:** arboviruses; dengue; Chikungunya; mosquitoes; *Aedes spp.*; identification; ELISA; PCR; sequencing.

**Acknowledgments.** This work was supported by the Russian Science Foundation (grant 17-15-01525).

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

**For citation:** Ignatyev G.M., Kaa K.V., Oksanich A.S., Antonova L.P., Samartseva T.G., Mefed K.M., Yakovleva D.A., Zhirenkina E.N. Indication and identification of dengue and chikungunya viruses in *Aedes spp.* mosquitoes captured in Central America. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(3): 227–232. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-4>

Received 27 January 2020

Accepted 9 February 2020

## Введение

Комары различных родов являются переносчиками целого ряда возбудителей вирусных заболеваний, прежде всего относящихся к семействам *Flaviviridae* (род *Flavivirus*) и *Togaviridae* (род *Alfavirus*) [1, 2]. Ареал распространения комаров родов *Aedes spp.*, *Culex spp.*, *Culiseta spp.* не ограничивается странами, расположенными в тропической и субтропической зонах. Комары этих видов распространены в странах с умеренным климатом в Южном и Северном полушариях [2–4]. В связи с этим возрастает вероятность смены переносчика, что, в свою очередь, может приводить к изменениям инфекционности вирусов для человека [5].

Для вируса Чикунгунья описаны три генотипа: Восточный/Центральный/Южно-Африканский, Западно-Африканский и Азиатский [6]. Увеличение выявляемости вируса Чикунгунья в отловленных комарах и у заболевших людей привело к более подробному изучению нуклеотидных последовательностей его изолятов, из-за чего изменилось представление о генотипах данного патогена. В частности, некоторыми исследователями предлагаются генотипы линии Индийского океана и карибский [6–8]. Для вируса денге описаны только 4

серотипа [5, 9]. Учитывая растущую выявляемость вирусов, переносимых комарами, и их патогенность для человека, разработка средств профилактики и лечения заболеваний, вызываемых альфа- и флавивирусами, остается актуальной. Выделение вирусов непосредственно от переносчиков, отловленных в естественных ареалах обитания, и изучение выделенных штаммов являются составной частью этого процесса.

**Целью** данной работы были выделение и идентификация арбовирусов, принадлежащих родам *Flavivirus* и *Alfavirus*, из комаров видов *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, *Culiseta spp.*, *Culex spp.*

## Материалы и методы

Комары были отловлены в сухой сезон в лесной зоне в Никарагуа (муниципалитет Типитапа) с координатами 12.325527N 85.974662W и 12.323326N 85.974275W. Среди отловленных комаров были представители родов *Aedes* (виды *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*), *Culiseta spp.* и *Culex spp.* После определения видов комары были разделены на пулы по 4–5 особей одного вида. Каждый пул был гомогенизирован до получения суспензии в объеме 0,4 мл фосфатно-солевого буфера pH 7,4.

**Выделение вируса.** Полученную суспензию комаров наносили на монослой комариных клеток линии C6/36, выращенный в культуральных флаконах («Corning», США) площадью 25 см<sup>2</sup>. После 1 ч адсорбции во флаконы добавляли среду поддержки DMEM (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова» РАН) с 2% фетальной эмбриональной сывороткой («Gibco»). Флаконы находились в термостате при 32°C с 5% содержанием CO<sub>2</sub>. Наблюдение за монослоем проводили ежедневно под микроскопом до появления цитопатического действия.

**Определение антигенов вирусов.** Для определения антигенов вирусов Чикунгунья, Денге, Синдбис и вируса Западного Нила в образцах культуральной жидкости использовали наборы реагентов компании «Биосервис»: «БиоСкрин-Денге» (комплект АГ), «БиоСкрин-Чикунгунья» (комплект АГ), «БиоСкрин-ВЗН» (комплект АГ), «БиоСкрин-Синдбис» (комплект АГ). Постановку реакции и учет результатов проводили согласно инструкции к наборам реагентов.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР).** Из 100 мкл вирусосодержащей культуральной жидкости с помощью комплекта реагентов «АмплиСенс® Магно-Сорб» («ИнтерЛабСервис») выделяли РНК согласно инструкции производителя.

Далее с использованием обратных праймеров для вируса Чикунгунья: pE2CHVrev1, pE2CHVrev2, pE1CHVrev1, pE1CHVrev2, pNS1CHVrev1, pNS1CH-

Vrev2, pNS1CHVrev3 (табл. 1); для вируса денге — pDV2rt (5'-CAGCCATGGCAGCGGTAGGTC-3') и набора реагентов для обратной транскрипции (ОТ) («Синтол») на матрице вирусной РНК проводили реакцию ОТ и получали кДНК. На первом этапе смешивали 2 мкл обратного праймера (10 пкмоль/мкл) с 6 мкл выделенной РНК и прогревали смесь при 95°C 5 мин. После этого пробирки охлаждали при комнатной температуре 2 мин, добавляли в них 22 мкл смеси для ОТ (9 мкл деионизированной воды, 12 мкл 2,5-кратного буфера для ОТ, 2,5 мкл MMLV-ревертазы) и инкубировали при 42°C 30 мин. Для инактивации ревертазы смесь прогревали в течение 5 мин при 95°C.

Для получения фрагментов генов *E1*, *E2* и *NS1* вируса Чикунгунья и их секвенирования использовали олигонуклеотиды, описанные в табл. 1.

ПЦР на кДНК, полученной после ОТ, проводили с использованием следующих комбинаций праймеров для вируса Чикунгунья:

- ген *E1* — pE1CHVfor1 и pE1CHVrev1, pE1CHVfor2 и pE1CHVrev2;
- ген *E2* — pE2CHVfor1 и pE2CHVrev1, pE2CHVfor2 и pE2CHVrev2;
- ген *NS1* — pNS1CHVfor1 и pNS1CHVrev1, pNS1CHVfor2 и pNS1CHVrev2, pNS1CHVfor3 и pNS1CHVrev3.

Для вируса денге ПЦР проводили при ранее описанных условиях [10]: pDV2for (5'-CCAAAAA

**Таблица 1.** Праймеры, использованные для ОТ, ПЦР и секвенирования вируса Чикунгунья

**Table 1.** Primers used for RT, PCR and sequencing of the Chikungunya virus

Номер комплекта праймеров Ref No. of primers	Праймер Primer index	Ген белка Protein gene	Последовательность праймера Sequence of the primer	Координаты Coordinates	Размер ПЦР-продукта, п.н. Size of the PCR-product, b.p.
1	pE1CHVfor1	<i>E1</i>	5'-GAACTGACACCAGGAGCTACCGTCC-3'	9745–10600	856
	pE1CHVrev1		5'-CGCCAAATTGCTCTGGTCTTCCTG-3'		
2	pE1CHVfor2		5'-AACATGGACTACCCGCCCTT-3'	10552–11313	762
	pE1CHVrev2		5'-GTGCCTGCTRAACGACACGC-3'		
1	pE2CHVfor1	<i>E2</i>	5'-TTCAATGTCTATAAAGCCACAAGACC-3'	8560–9240	681
	pE2CHVrev1		5'-GTGATTGGTGACCGCGGCATG-3'		
2	pE2CHVfor2		5'-GYCAGACGGTGCGGTACAAGTG-3'	9125–9794	670
	pE2CHVrev2		5'-GCAGCATATTAGGCTAAGCAGGAAAG-3'		
1	pNS1CHVfor1	<i>NS1</i>	5'-ATGGATYCTGTGTACGTGGAYATAGAC-3'	80–572	493
	pNS1CHVrev1		5'-GGTGRATATAGCGACGTGGGTGC-3'		
2	pNS1CHVfor2		5'-CATGTAGACAGAGAGCAGACGTCGC-3'	498–1139	642
	pNS1CHVrev2		5'-CCTCCGGCGTGACTTCTGTAGC-3'		
3	pNS1CHVfor3		5'-CGTGCCGGCGACCATTTGTG-3'	1078–1710	633
	pNS1CHVrev3		5'-GCKCCTCTMGAGTCTCTATTATCC-3'		

CCCGCCACTCTAAGG-3') и pDV2rev (5'-GTTAT CACGACAGTGTATTCCA-3'). ПЦР-смесь получали смешиванием по 1 мкл прямого и обратного праймеров с концентрацией 10 пкмоль/мкл, 10 мкл универсальной 2,5-кратной реакционной смеси для ПЦР («Синтол»), 8 мкл деионизированной воды с последующим добавлением 5 мкл кДНК. Амплификацию проводили на приборе XP Cycler («Hangzhou Bioer Technology») по следующей программе: 95°C — 1 мин 30 с; 30 циклов: 95°C — 20 с, 55°C — 15 с, 72°C — 30 с; финальная элонгация: 72°C — 10 мин. Программа для амплификации вируса денге: 95°C — 1 мин 30 с; 40 циклов: 95°C — 20 с, 57°C — 15 с, 72°C — 30 с; финальная элонгация 72°C — 10 мин.

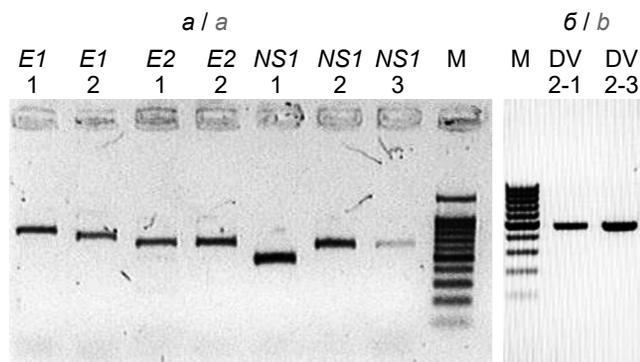
Определение инфицированности (minimum infection rate, MIR) исследованных комаров проводили, как описано ранее [11, 12].

### Результаты

Всего обследовано 102 комара трех родов (табл. 2). Наибольшее количество комаров относилось к роду *Aedes*, представленному видами *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*. Каждый образец суспензии прошел 4 последовательных «слепых» пассажа на клетках С6/36. Контроль за состоянием монослоя клеток проводили под микроскопом в течение 5 дней после пассажа.

В результате подтверждено, что изолят, полученный из комаров *Aedes albopictus*, содержал РНК вируса Чикунгунья и не содержал РНК вируса денге. Изолят, полученный от комаров *Aedes aegypti*, содержал РНК вируса денге и не содержал РНК вируса Чикунгунья. Изолят денге по результатам секвенирования был отнесен ко 2-му типу. ПЦР-продукты генов *E1*, *E2* и *NS1*, полученные при амплификации изолята вируса Чикунгунья, также были отсекувенированы.

Полученные последовательности представлены в GenBank под номерами MN271691 и MN271692. С помощью компьютерной программы BLAST нуклеотидные последовательности изолята



Электрофорез фрагментов генов вируса Чикунгунья (а) и денге (б) в 1% агарозном геле.

а — ПЦР-продукты фрагментов генов *E1*, *E2* и *NS1* вируса Чикунгунья. 1–3 — номера комплекта праймеров (табл. 1); б — ПЦР-продукты фрагмента гена поверхностного белка вируса денге, полученного на 4-м (DV2-1) и 5-м (DV2-3) пассажах. М 100 bp — весовой ДНК-маркер, 100 п.о.

The electrophoresis of gene fragments of Chikungunya (a) and dengue (b) viruses in 1% agarose gel.

а — PCR products of *E1*, *E2* and *NS1* gene fragments of the Chikungunya virus. 1–3 — the reference numbers of primers (Table 1);

б — PCR products of the gene fragment of the surface protein of the dengue virus, which was obtained on the 4<sup>th</sup> (DV2-1) and 5<sup>th</sup> (DV2-3) passages. M 100 bp — the DNA molecular weight marker, 100 bp.

вируса Чикунгунья были отнесены к Восточному/Центральному/Южно-Африканскому генотипу.

При исследовании суспензий только в 2 пулах комаров, полученных от *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*, начиная с 3-го пассажа были отмечены изменения монослоя клеток. На 4-м пассаже пула *Aedes aegypti* цитопатическое действие отмечалось на 4-е сутки, а для пула *Aedes albopictus* — на 3-и сутки. После дополнительного, 5-го пассажа на клетках С6/36 материалы указанных пулов были исследованы в ИФА (наборы реагентов «Биосервис») на определение наличия антигенов вирусов денге, Чикунгунья, Западного Нила и Синдбис.

В пулах *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* в материалах всех исследованных пассажей антигены вирусов Западного Нила и Синдбис не выявлены (табл. 2). В то же время в материалах суспензии, по-

**Таблица 2.** Род комаров, общее количество и количество исследованных пулов

**Table 2.** Mosquito genus and total number of mosquitoes; number of studied pools

Род комаров Mosquito genus	Количество комаров Number of mosquitoes	Количество пулов Number of pools	ИФА / ELISA		ПЦР / PCR	
			денге dengue	Чикунгунья Chikungunya	денге dengue	Чикунгунья Chikungunya
<i>Culex spp.</i>	16	4	0/4	0/4	0/4	0/4
<i>Culiseta spp.</i>	21	5	0/5	0/5	0/5	0/5
<i>Aedes spp.</i>	65	16	1/16	1/16	1/16	1/16
<i>Aedes aegypti</i>	28	7	1/7	0/7	1/7	0/7
<i>Aedes albopictus</i>	37	9	0/9	1/9	0/9	1/9

лученной из пула *Aedes albopictus*, начиная с 4-го пассажа выявлялся антиген вируса Чикунгунья. В материалах, полученных из пула *Aedes aegypti*, на 5-м пассаже определялся вирус денге (рисунок). Таким образом, только в 2 из 25 исследованных пулов комаров разных родов определялись антигены вирусов Чикунгунья или денге.

Инфицированность (MIR) составила для *Aedes aegypti* 0,0357, для *Aedes albopictus* — 0,0270. Таким образом, пулы, содержащие антигены Чикунгунья и денге, на 4-м и 5-м последовательных пассажах вызывали цитопатическое действие на клетках С6/36. Материал 5-го пассажа обоих пулов комаров был исследован в ОТ-ПЦР со специфическими праймерами к вирусам денге и Чикунгунья.

### Обсуждение

В странах Центральной Америки распространение вирусов денге и Чикунгунья связано с комарами вида *Aedes*. Сбор насекомых проводится, как правило, в местах проживания человека [2–5, 9, 12]. В нашем исследовании комары 3 видов были отловлены вне населенных пунктов, в лесной зоне. При определении инфицированности комаров этого вида тем или иным вирусом важным фактором является количество комаров в исследуемом пуле. Оптимальным является пул, состоящий из 4 комаров [2, 11, 12]. Для детекции вирусов в пулах комаров используется ПЦР, в случае положительного результата проводится секвенирование полученного ампликона. Данных об использовании ИФА в опубликованных статьях нет.

В связи с ограниченным объемом первичной суспензии комаров в нашем исследовании проведение детекции вирусов после «слепых» последовательных пассажей на клетках С6/36 полностью оправданно. Использование для детекции вируса ИФА, как и проведение ОТ-ПЦР, позволяет провести детекцию двумя независимыми методами.

### ЛИТЕРАТУРА

- Kraemer M.U.D., Sinka M.E., Duda K.A., Mylne A., Shearer F.M., Brady O.J., et al. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* occurrence. *Sci. Data*. 2015; 2: 150035. DOI: <http://doi.org/10.1038/sdata.2015.35>
- Ponce P., Morales D., Argoti A., Cevallos V.E. First report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), the Asian tiger mosquito, in Ecuador. *J. Med. Entomol.* 2018; 55(1): 248-9. DOI: <http://doi.org/10.1093/jme/tjx165>
- Cevallos V., Ponce P., Waggoner J.J., Pinsky B.A., Coloma J., Quiroga C., et al. Zika and Chikungunya virus detection in naturally infected *Aedes aegypti* in Ecuador. *Acta Trop.* 2018; 177: 74-80. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.029>
- Waggoner J.J., Gresh L., Vargas M.J., Ballesteros G., Tellez Y., Soda K.J., et al. Viremia and clinical presentation in Nicaraguan patients infected with Zika virus, Chikungunya virus, and Dengue virus. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63(12): 1584-90. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciw589>
- Vega-Rua A., Zouache K., Caro V., Diancourt L., Delaunay P., Grandadam M., et al. High efficiency of temperate *Aedes albopictus* to transmit Chikungunya and dengue viruses in the Southeast of France. *PLoS One*. 2013; 8(3): e59716. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0059716>
- Intayot P., Phumee A., Boonserm R., Sor-Suwan S., Bua-thong R., Wacharapluesadee S., et al. Genetic characterization of Chikungunya virus in field-caught *Aedes aegypti* mosquitoes collected during the recent outbreaks in 2019, Thailand. *Pathogens*. 2019; 8(3): 121. DOI: <http://doi.org/10.3390/pathogens8030121>
- Chen R., Puri V., Fedorova N., Lin D., Hari K.L., Jain R., et al. Comprehensive genome scale phylogenetic study provides new insights on the global expansion of Chikungunya virus. *J. Virol.* 2016; 90(23): 10600-11. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.01166-16>
- Villero-Wolf Y., Mattar S., Puerta-González A., Arrieta G., Muskus C., Hoyos R., et al. Genomic epidemiology of Chikungunya virus in Colombia reveals genetic variability of strains and multiple geographic introductions in outbreak, 2014. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 9970. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-019-45981-8>
- Guzman M.G., Halstead S.B., Artsob H., Buchy P., Farrar J., Gubler D.J., et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(12 Suppl.): S7-S16. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2460>
- Букин Е.К., Отрашевская Е.В., Воробьева М.С., Игнатьев Г.М. Сравнительное изучение показателей гемостаза и продукции цитокинов при экспериментальной инфекции вирусом денге. *Вопросы вирусологии*. 2007; 52(2): 32-6.
- Gu W., Unnasch T.R., Katholi C.R., Lampman R., Novak R.J. Fundamental issues in mosquito surveillance for arboviral transmission. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008; 102(8): 817-22. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.03.019>
- Medeiros A.S., Costa D.M.P., Branco M.S.D., Sousa D.M.C., Monteiro J.D., Galvão S.P.M., et al. Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Importance of virological and entomological surveillance. *PLoS One*. 2018; 13(3): e0194108. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0194108>

### REFERENCES

- Kraemer M.U.D., Sinka M.E., Duda K.A., Mylne A., Shearer F.M., Brady O.J., et al. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* occurrence. *Sci. Data*. 2015; 2: 150035. DOI: <http://doi.org/10.1038/sdata.2015.35>
- Ponce P., Morales D., Argoti A., Cevallos V.E. First report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), the Asian tiger mosquito, in Ecuador. *J. Med. Entomol.* 2018; 55(1): 248-9. DOI: <http://doi.org/10.1093/jme/tjx165>
- Cevallos V., Ponce P., Waggoner J.J., Pinsky B.A., Coloma J., Quiroga C., et al. Zika and Chikungunya virus detection in naturally infected *Aedes aegypti* in Ecuador. *Acta Trop.* 2018; 177: 74-80. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.029>
- Waggoner J.J., Gresh L., Vargas M.J., Ballesteros G., Tellez Y., Soda K.J., et al. Viremia and clinical presentation in Nicaraguan patients infected with Zika virus, Chikungunya virus, and Dengue virus. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63(12): 1584-90. DOI: <http://doi.org/10.1093/cid/ciw589>
- Vega-Rua A., Zouache K., Caro V., Diancourt L., Delaunay P., Grandadam M., et al. High efficiency of temperate *Aedes albopictus* to transmit Chikungunya and dengue viruses in the Southeast of France. *PLoS One*. 2013; 8(3): e59716. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0059716>
- Intayot P., Phumee A., Boonserm R., Sor-Suwan S., Bua-thong R., Wacharapluesadee S., et al. Genetic characterization of Chikungunya virus in field-caught *Aedes aegypti* mosquitoes

- collected during the recent outbreaks in 2019, Thailand. *Pathogens*. 2019; 8(3): 121.  
DOI: <http://doi.org/10.3390/pathogens8030121>
7. Chen R., Puri V., Fedorova N., Lin D., Hari K.L., Jain R., et al. Comprehensive genome scale phylogenetic study provides new insights on the global expansion of Chikungunya virus. *J. Virol.* 2016; 90(23): 10600-11.  
DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.01166-16>
  8. Villero-Wolf Y., Mattar S., Puerta-González A., Arrieta G., Muskus C., Hoyos R., et al. Genomic epidemiology of Chikungunya virus in Colombia reveals genetic variability of strains and multiple geographic introductions in outbreak, 2014. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 9970.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-019-45981-8>
  9. Guzman M.G., Halstead S.B., Artsob H., Buchy P., Farrar J., Gubler D.J., et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(12 Suppl.): S7-S16.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2460>
  10. Bukin E.K., Otrashesvskaya E.V., Vorob'eva M.S., Ignat'ev G.M. Comparative study of hemostasis and cytokine production in experimental Dengue virus infection. *Voprosy virusologii.* 2007; 52(2): 32-6. (in Russian)
  11. Gu W., Unnasch T.R., Katholi C.R., Lampman R., Novak R.J. Fundamental issues in mosquito surveillance for arboviral transmission. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008; 102(8): 817-22.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.03.019>
  12. Medeiros A.S., Costa D.M.P., Branco M.S.D., Sousa D.M.C., Monteiro J.D., Galvão S.P.M., et al. Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Importance of virological and entomological surveillance. *PLoS One.* 2018; 13(3): e0194108.  
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0194108>

**Информация об авторах:**

**Игнат'ев Георгий Михайлович** — д.м.н., проф., зам. руководителя производственного направления ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», 108819, Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9731-3681>.  
E-mail: [marburgman@mail.ru](mailto:marburgman@mail.ru)

**Каа Константин Владимирович** — асп. лаб. молекулярной биологии вирусов ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8446-1853>.

**Оксанич Алексей Сергеевич** — к.б.н., генеральный директор АО БТК «Биосервис», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8600-7347>.

**Антонова Лилия Петровна** — асп. лаб. молекулярной биологии вирусов, ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1221-1134>.

**Самарцева Татьяна Геннадьевна** — м.н.с. ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3264-6722>.

**Мефед Кирилл Михайлович** — к.б.н., зам. нач. отдела управления качеством ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7335-1982>.

**Яковлева Динора Абдуллаевна** — к.м.н., с.н.с. ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8771-4177>.

**Жиренкина Екатерина Николаевна** — к.м.н., зам. директора по научной работе ФГУП «СПбНИИВС», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0810-5985>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Georgy M. Ignatyev** — D. Sci. (Med.), Prof., Deputy Head, Production department, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, 108819, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9731-3681>.  
E-mail: [marburgman@mail.ru](mailto:marburgman@mail.ru)

**Konstantin V. Kaa** — postgraduate student, laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8446-1853>.

**Alexey S. Oksanich** — PhD (Biol.), General Director, "Bioservice" Biotechnology Company, Borovsk, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8600-7347>.

**Lilya P. Antonova** — postgraduate student, laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1221-1134>.

**Tatyana G. Samartseva** — junior researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3264-6722>.

**Kirill M. Mefed** — PhD (Biol.), Deputy Head of Quality Management, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7335-1982>.

**Dinora A. Yakovleva** — PhD (Med.), senior researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8771-4177>.

**Ekaterina N. Zhirenkina** — PhD (Med.), Deputy Director for science, St. Petersburg Vaccine and Sera Research Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0810-5985>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



## Состояние гуморального иммунитета к парвовирусу В19 у населения отдельных географических регионов

Лаврентьева И.Н.<sup>1✉</sup>, Хамитова И.В.<sup>1</sup>, Camara J.<sup>3</sup>, Антипова А.Ю.<sup>1</sup>, Бичурина М.А.<sup>1</sup>,  
Magassouba N.F.<sup>3</sup>, Никишов О.Н.<sup>2</sup>, Кузин А.А.<sup>2</sup>, Семенов А.В.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, 194044, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Университет имени Гамалея Абдель Насера, BP 1143, Конакри, Гвинейская Республика;

<sup>4</sup>ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** В ряде стран, в том числе в России, отсутствуют регистрация и учет заболеваемости парвовирусной инфекцией; о распространении этой инфекции можно судить по показателям гуморального иммунитета.

**Цель** исследования: оценка серопревалентности к парвовирусу В19 (PVB19) в разных возрастных группах населения России, Средней Азии, Западной Африки.

**Материалы и методы.** На IgG-антитела к PVB19 исследованы 1732 сыворотки крови жителей Санкт-Петербурга, Нур-Султана, трудовых мигрантов из Узбекистана и Таджикистана, граждан Гвинейской Республики.

**Результаты.** Наибольшие показатели серопревалентности выявлены в городах Санкт-Петербурге и Нур-Султане (62–65%); наименьшие — среди трудовых мигрантов из Узбекистана и Таджикистана (47%). Показатель серопревалентности к PVB19, полученный в Гвинейской Республике, составил 53%. Установлена общая тенденция повышения доли серопозитивных лиц в старших возрастных группах: до 55% — у мигрантов из Средней Азии и граждан Гвинейской Республики; до 80–85% — у жителей Санкт-Петербурга и Нур-Султана.

**Обсуждение.** Полученные результаты подтверждают факт распространения парвовирусной инфекции в разных странах мира. Наличие восприимчивых к заражению лиц может привести к распространению инфекции в группах риска — среди беременных женщин, лиц с иммунодефицитами, реципиентов препаратов крови, онкологических больных.

**Ключевые слова:** парвовирусная инфекция; гуморальный иммунитет; серопревалентность; Российская Федерация; Средняя Азия; Гвинейская Республика.

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

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

**Для цитирования:** Лаврентьева И.Н., Хамитова И.В., Camara J., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Magassouba N.F., Никишов О.Н., Кузин А.А., Семенов А.В. Состояние гуморального иммунитета к парвовирусу В19 у населения отдельных географических регионов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 233–241.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-5>

Поступила 28.02.2020  
Принята в печать 18.05.2020

## The Status of Humoral Immunity to Parvovirus B19 in Population of Certain Geographical Regions

Irina N. Lavrentieva<sup>1✉</sup>, Irina V. Khamitova<sup>1</sup>, Jacob Camara<sup>3</sup>, Anastasia Yu. Antipova<sup>1</sup>,  
Maina A. Bichurina<sup>1</sup>, Magassouba N. Faly<sup>3</sup>, Oleg N. Nikishov<sup>2</sup>,  
Alexander A. Kuzin<sup>2</sup>, Alexander V. Semenov<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>S.M. Kirov Military Medical Academy, 194044, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Gamal Abdel Nasser University, BP 1143, Conakry, Guinea Republic;

<sup>4</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 191015, Saint Petersburg, Russia

**Introduction.** In a number of countries, including Russia, there is no systematic registration and reporting of parvovirus infection cases; the extent of its spread can be estimated by using humoral immunity rates.

**Purpose** of the study: Assessment of seroprevalence of parvovirus B19 (B19V) in different age groups of population of Russia, Central Asia, and West Africa.

**Materials and methods.** A total of 1,732 blood serum samples from residents of St. Petersburg and Nur-Sultan, migrant workers from Uzbekistan and Tajikistan, residents of the Republic of Guinea were studied for IgG antibodies to B19V.

**Results.** The highest seroprevalence rates were identified in St. Petersburg and Nur-Sultan (62–65%); the lowest rates were registered among migrant workers from Uzbekistan and Tajikistan (47%). The results for the Republic of Guinea showed a B19V seroprevalence rate of 53%. It was found that there is an increasing trend of seropositivity with age; the percentage of seropositive individuals clearly increases in older age groups: up to 55% — among migrant workers from Central Asia and residents of the Republic of Guinea; up to 80–85% — among residents of St. Petersburg and Nur-Sultan.

**Discussion.** The obtained results confirm the worldwide occurrence of parvovirus infection. People susceptible to infection can cause infection spreading in high-risk groups — among pregnant women, immunodeficient patients, blood product recipients, and cancer patients.

**Keywords:** *parvovirus infection; humoral immunity; seroprevalence; Russian Federation; Central Asia; Republic of Guinea.*

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Lavrentieva I.N., Khamitova I.V., Camara J., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Magassouba N.F., Nikishov O.N., Kuzin A.A., Semenov A.V. The status of humoral immunity to parvovirus B19 in population of certain geographical regions. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(3): 233–241. (In Russ.).  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-5>

Received 28 February 2020

Accepted 18 May 2020

## Введение

Медицинская значимость парвовирусной инфекции (ПВИ) связана с особенностями возбудителя — парвовируса человека B19 (PVB19). Вирус обладает тератогенным действием, наиболее активно проявляющимся во II триместре беременности [1–3]. При внутриутробном инфицировании плода развивается врожденная ПВИ, как наиболее частое ее проявление описана неиммунная водянка плода [4–7]. Вторая особенность PVB19 — тропность к клеткам-предшественникам эритроцитов (преэритробластам) [8]. Вследствие этого инфицирование PVB19 вызывает нарушение эритропоэза, которое может приводить к тяжелым последствиям у лиц с иммунодефицитами или хроническими анемиями [9, 10].

Помимо клинически выраженной формы заболевания, развивающейся преимущественно у детей, и имеющей название «инфекционная эритема», проявления ПВИ достаточно разнообразны: от бессимптомных форм (30–50% всех случаев заболевания) или легкой экзантемы до артритов и артралгий (преимущественно у взрослых), а также выраженных анемий вплоть до развития апластического криза (лица с иммунодефицитами, больные гематологического профиля) [11–17].

В настоящее время в ряде стран, включая Россию, отсутствует регистрация и учет заболеваемо-

сти ПВИ, ограничены сведения о масштабах ее распространения, в том числе в группах риска (беременные женщины, реципиенты препаратов крови) [15, 18–21].

Учитывая, что методов специфической профилактики ПВИ не разработано, а специфические иммуноглобулины G сохраняются в сыворотках крови переболевших пожизненно, о распространении этой инфекции в популяции можно судить по показателям гуморального иммунитета.

**Цель** настоящего исследования — оценить формирование гуморального иммунитета к ПВИ в разных возрастных группах лиц, проживающих в европейской части России, государствах Средней Азии и Западной Африки.

## Материалы и методы

На IgG-антитела к PVB19 были исследованы 1732 сыворотки крови условно здоровых лиц в возрасте 18–87 лет, в том числе 817 сывороток жителей Российской Федерации (Санкт-Петербург), 114 сывороток трудовых мигрантов из Средней Азии, 480 сывороток жителей Казахстана (Нур-Султан), 321 сыворотка граждан Гвинейской Республики (ГР). Сыворотки получены в 2017–2018 гг. из коллекций вирусологических лабораторий Санкт-Петербургского Регионального центра по надзору за корью и краснухой в СЗФО, Регионального центра

по надзору за корью в ГР, лаборатории этиологии и иммунологии ВИЧ НИИЭМ им. Пастера.

Для определения IgG-антител к PVB19 использовали тест-систему «Anti-Parvovirus B19 ELISA IgG» («Euroimmun AG», Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ MS Excel, Prizm 5.0 («GraphPad Software Inc.»). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы. Значение критерия  $\chi^2$  сравнивали с критическими значениями для соответствующего числа степеней свободы. В том случае, если полученное значение критерия  $\chi^2$  превышало критическое, делался вывод о наличии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом при соответствующем уровне значимости.

В качестве показателя тесноты связи между количественными показателями  $x$  и  $y$ , имеющими нормальное распределение, использовался коэффициент корреляции  $r_{xy}$  Пирсона. Оценка статистической значимости корреляционной связи осуществлялась с помощью  $t$ -критерия. Значения коэффициента корреляции  $r_{xy}$  интерпретировали в соответствии со шкалой Чеддока. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности  $p < 0,05$ .

## Результаты

### *Состояние гуморального иммунитета к парвовирусу B19 среди условно здоровых жителей Санкт-Петербурга (Россия)*

Сыворотки крови условно здоровых жителей Санкт-Петербурга ( $n = 317$ ) были получены от лиц в возрасте 18–87 лет (средний возраст  $42,3 \pm 12,09$  года, медиана 39 лет). Общая доля мужчин составила 32,8%, женщин — 67,2%. Сыворотки были распределены на 4 возрастные группы. Специфические антитела класса IgG к PVB19 были обнаружены, в целом в  $62,1 \pm 2,7\%$  (197 из 317) образцов и выявлялись в каждой из четырех групп (табл. 1).

Наименьшая доля серопозитивных лиц выявлена в группе 18–20 лет; она составила  $33,3 \pm 11,1\%$ . С возрастом доля IgG-положительных к PVB19 проб увеличивается. Совокупно доля позитивных образцов среди лиц 18–30 лет составила  $53,5 \pm 5,3\%$ , а максимальная доля положительных находок ( $72,5 \pm 3,6\%$ ) была обнаружена в возрастной группе 41 год и старше. Выявленные различия статистически значимы ( $df = 3$ ;  $\chi^2 = 17,623$ ;  $p < 0,001$ ).

Гендерный анализ не выявил существенных различий между серопозитивными лицами мужского и женского пола: 66,5 и 62,0% соответственно ( $df = 3$ ;  $\chi^2 = 2,399$ ;  $p = 0,494$ ). Доля серопозитивных лиц женского пола несколько преобладала в возрастных группах 18–20 лет и 41 год и старше; серопозитивные лица мужского пола чаще выявлялись в возрасте 21–40 лет.

Таким образом, среди условно здоровых жителей Санкт-Петербурга в целом выявлено около 62% серопозитивных к PVB19 лиц с тенденцией к увеличению их доли в старших возрастных группах, без существенных различий по гендерному признаку.

Иначе формировался коллективный иммунитет к PVB19 в организованном коллективе, который состоял из преподавателей и курсантов (находящихся в специальных условиях проживания) одного из военных училищ Санкт-Петербурга. Были исследованы 500 сывороток крови, полученных от лиц в возрасте 18–60 лет (средний возраст 25,2 года, медиана 21 год). Подавляющее число обследованных — мужчины (91,6%). Серопревалентность к PVB19 в организованном коллективе оказалась существенно выше ( $p = 0,005$ ), чем в среднем среди жителей города, и составила  $85,8 \pm 1,56\%$  (табл. 2). Отличительной особенностью данной популяции является большое количество (190 из 223 человек) серопозитивных к PVB19 лиц среди курсантов 18–20 лет: их доля составила  $85,2 \pm 2,38\%$ . Высокий уровень гуморального иммунитета сохранялся без статистически значимых изменений во всех обследованных возрастных группах.

Доля IgG-положительных образцов у лиц мужского пола ( $86,7 \pm 1,59\%$ ) была выше, чем у женщин ( $69,0 \pm 7,13\%$ ), однако весьма низкое количество обследованных в данной популяции женщин (42 из

**Таблица 1.** Выявление специфических IgG к PVB19 в сыворотках крови условно здоровых жителей Санкт-Петербурга ( $n = 317$ ) в разных возрастных группах

**Table 1.** Identification of anti-PVB19 IgG antibodies in the blood serum of relatively healthy residents of St. Petersburg ( $n = 317$ ) in different age groups

Возраст, годы Age, years	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Из них IgG+ к PVB19 Of these, IgG+ to PVB19	
		абс. abs.	%, $M \pm m$
18–20 <sup>1</sup>	18	6	33,3 $\pm$ 11,1
21–30 <sup>2</sup>	68	40	58,8 $\pm$ 5,9
18–30	86	46	53,5 $\pm$ 5,3
31–40 <sup>3</sup>	78	40	51,3 $\pm$ 5,6
$\geq 41$ <sup>4</sup>	153	111	72,5 $\pm$ 3,6
Всего Total	317	197	62,1 $\pm$ 2,7

**Примечание.** Достоверность различий:  $p_{1-4} < 0,001$ .  
**Note.** Significance of differences:  $p_{1-4} < 0,001$ .

**Таблица 2.** Выявление специфических IgG к PVB19 в образцах крови условно здоровых лиц из организованного коллектива ( $n = 500$ ) в разных возрастных группах

**Table 2.** Identification of anti-PVB19 IgG antibodies in blood samples of healthy individuals from an organized team ( $n = 500$ ) in different age groups

Возраст, годы Age, years	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Из них IgG+ к PVB19 Of these, IgG+ to PVB19	
		абс. abs.	%, $M \pm m$
18–20	223	190	85,2 $\pm$ 2,3
21–30	173	145	83,8 $\pm$ 2,8
31–40	64	60	93,8 $\pm$ 3,0
$\geq 41$	40	34	85,0 $\pm$ 5,6
Всего Total	500	426	85,8 $\pm$ 1,5

500 человек) не позволяет считать выявленные гендерные различия достоверными.

Таким образом, в условиях длительного тесного контакта (проживание в казармах) интенсивное формирование коллективного иммунитета к PVB19 произошло уже среди лиц первой возрастной группы (18–20 лет), что, видимо, связано со скрытой циркуляцией возбудителя в данной популяции.

*Состояние гуморального иммунитета к PVB19 у трудовых мигрантов из государств Средней Азии*

В последние годы имеет место тенденция распространения бактериальных и вирусных инфекций, связанная с активными миграционными процессами. В Россию ежегодно прибывает большое количество трудовых мигрантов из стран Средней Азии. Сведения о циркуляции возбудителей инфекционных заболеваний, в том числе ПВИ, в этой группе, как правило, отсутствуют.

Ниже представлены результаты изучения уровня гуморального иммунитета к PVB19 у мигрантов

**Таблица 3.** Выявление специфических IgG к PVB19 в образцах крови трудовых мигрантов из Средней Азии ( $n = 114$ ) в разных возрастных группах

**Table 3.** Identification of anti-PVB19 IgG antibodies in blood samples of labor migrants from Central Asia ( $n = 114$ ) in different age groups

Возраст, годы Age, years	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Из них IgG+ к PVB19 Of these, IgG+ to PVB19	
		абс. abs.	%, $M \pm m$
18–30	50	19	38,0 $\pm$ 6,8
31–40	33	18	54,5 $\pm$ 8,6
$\geq 41$	31	17	54,8 $\pm$ 8,9
Всего Total	114	54	47,4 $\pm$ 4,6

из Средней Азии, находившихся в Санкт-Петербурге по трудовой визе. Оценка доли IgG-положительных лиц важна для определения значимости данной популяции в распространении ПВИ как среди мигрантов, так и среди постоянных жителей Санкт-Петербурга.

Для выявления IgG-антител к PVB19 были исследованы 114 образцов сыворотки крови трудовых мигрантов из Узбекистана и Таджикистана (104 мужчины и 10 женщин) в возрасте 18–56 лет (средний возраст 33,4 года, медиана 33,5 года), распределенные на три возрастные группы (табл. 3). В целом количество и доля IgG<sup>+</sup>-образцов составили 54 из 114 (47,4  $\pm$  4,6%). Специфические IgG-антитела обнаружены в каждой из представленных возрастных групп.

Совокупно IgG-положительные сыворотки, полученные от лиц 18–30 лет, составили 38,0  $\pm$  6,8% образцов. У лиц старше 30 лет доля образцов, содержащих IgG к PVB19, возросла в среднем до 54,6% и сохранялась на этом уровне.

Доля серопозитивных трудовых мигрантов в возрасте 30 лет и младше оказалась несколько ниже, чем доля серопозитивных жителей Санкт-Петербурга той же возрастной группы: 38,0 и 53,5% соответственно (различия статистически не достоверны). Достоверные ( $p = 0,05$ ) различия выявлены в группе лиц старше 41 года: 54% серопозитивных среди трудовых мигрантов и 72,5% среди постоянных жителей Санкт-Петербурга.

Доля серопозитивных лиц мужского и женского пола оказалась сопоставима: 48,1  $\pm$  7,1% против 40,0  $\pm$  7,1% соответственно. Однако женщины составили менее 10% от числа обследованных в данной группе, что не позволяет считать полученные результаты значимыми.

Исследованные образцы крови получены от трудовых мигрантов, прибывших в Санкт-Петербург из районов Средней Азии с невысокой плотностью населения. Этим, видимо, объясняется меньшее количество серопозитивных к PVB19 лиц среди граждан Узбекистана и Таджикистана, чем среди жителей Санкт-Петербурга. Но возможно также наличие корреляции между интенсивностью формирования коллективного иммунитета к PVB19 и этнической принадлежностью обследованных лиц.

С целью подтверждения данного тезиса на IgG-антитела к PVB19 нами были исследованы образцы крови жителей другой страны Евразийского континента — Казахстана.

*Состояние гуморального иммунитета к PVB19 среди условно здоровых жителей Нур-Султана (Республика Казахстан)*

Для сравнительного исследования были использованы образцы, полученные от лиц, проживающих в столице Казахстана Нур-Султане, который сопоставим с Санкт-Петербургом по плотности населения,

количеству образовательных (средних и высших) учреждений, промышленных предприятий, военных училищ и пр. Для города характерна активная внутренняя и внешняя миграция, благодаря активному железнодорожному и воздушному сообщению.

Были исследованы 480 образцов сывороток крови условно здоровых жителей Нур-Султана в возрасте 18–59 лет (средний возраст  $30,5 \pm 9,8$  года, медиана 28 лет). Количество мужчин составляло 73,7%, женщин — 26,3%. PVB19-специфические антитела обнаружены в  $65,2 \pm 2,2\%$  образцов. Сыворотки были разделены на 5 возрастных групп, IgG-положительные образцы были обнаружены в каждой из них. Анализ данных **табл. 4** показал тенденцию к росту доли серопозитивных образцов в старших возрастных группах ( $r = 0,225$ ;  $p = 0,000001$ ). Наименьшая доля серопозитивных сывороток, а именно  $48,6 \pm 5,8\%$ , выявлена среди лиц в возрасте 18–20 лет. В возрастных группах 21–30 и 31–40 лет доля серопозитивных лиц возросла до  $62,0 \pm 3,3$  и  $69,9 \pm 4,3\%$  соответственно. В группе лиц в возрасте 41 год и старше доля позитивных IgG к PVB19 достигла  $80,5 \pm 4,2\%$ . Выявленные различия статистически достоверны ( $df = 3$ ;  $\chi^2 = 19,696$ ;  $p < 0,001$ ). Доля мужчин, имеющих IgG-антитела против PVB19, оказалась выше, чем доля серопозитивных женщин:  $69,5 \pm 2,9$  и  $53,2 \pm 6,1\%$  соответственно ( $df = 1$ ;  $\chi^2 = 10,368$ ;  $p = 0,002$ ).

Наибольшие различия отмечались в группе молодых людей 18–20 лет, где доля серопозитивных лиц мужского пола в 2,7 раза превышала долю защищенных от инфекции женщин:  $67,5 \pm 2,9$  и  $25,0 \pm 5,2\%$  соответственно. Различия статистически достоверны ( $p = 0,0004$ ). В возрастной группе 21–30 лет различия уменьшаются:  $65,1 \pm 3,4\%$  серопозитивных лиц мужского пола и  $47,2 \pm 6,1\%$  — женского; в группе лиц от 31 года и старше соотношение доли серопозитивных лиц мужского и женского пола выравнивается.

#### Состояние гуморального иммунитета к PVB19 у условно здоровых жителей ГР

Полученные результаты выявили особенности формирования коллективного иммунитета к PVB19 в странах Евразийского континента, связанных тесными взаимодействиями, миграционными потоками, торговыми, культурными и межличностными контактами. Африканский континент, географически удаленный от стран Евразии, характеризуется экономическими, социальными, этническими особенностями. Для оценки формирования коллективного иммунитета к PVB19 были использованы образцы крови жителей ГР, проживающих в городах Конакри и Киндия, провинциях Маму, Лабэ, Нзерекоре, Канкан, Фарана, Боке.

Исследовали 321 сыворотку крови мужчин и женщин установленного возраста, которые были по-

лучены от лиц 18–83 лет (средний возраст 35,6 года, медиана 32 года) и распределены на 4 возрастные группы. Количество образцов, разделенных по гендерному признаку, практически не различалось. Доля мужчин составила 50,1%, женщин — 49,9%.

Специфические IgG к PVB19 были выявлены в каждой из возрастных групп. В целом доля IgG-положительных проб составила  $53,9 \pm 2,78\%$  (173 из 321). Результаты представлены в **табл. 5**.

Наименьшая доля серопозитивных проб регистрировалась в группе 18–20 лет ( $44,4 \pm 11,7\%$ ). В возрастной группе 21–30 лет доля серопозитивных образцов увеличилась до  $53,8 \pm 5,6\%$ . Совокупно доля серопозитивных лиц от 18 до 30 лет составила  $52,1 \pm 5,1\%$  и существенно не изменялась в старших возрастных группах.

**Таблица 4.** Выявление специфических IgG к PVB19 в образцах крови условно здоровых жителей Нур-Султана ( $n = 480$ ) в разных возрастных группах

**Table 4.** Identification of anti-PVB19 IgG antibodies in the blood serum of relatively healthy residents of Nur-Sultan ( $n = 480$ ) in different age groups

Возраст, годы Age, years	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Из них IgG+ к PVB19 Of these, IgG+ to PVB19	
		абс. abs.	%, $M \pm m$
18–20 <sup>1</sup>	72	35	$48,6 \pm 5,8$
21–30 <sup>2</sup>	208	129	$62,0 \pm 3,3$
18–30	280	164	$58,6 \pm 2,9$
31–40 <sup>3</sup>	113	79	$69,9 \pm 4,3$
$\geq 41$ <sup>4</sup>	87	70	$80,5 \pm 4,2$
Всего Total	480	313	$65,2 \pm 2,2$

**Примечание.** Достоверность различий:  $p_{1-4} < 0,001$ .  
**Note.** Significance of differences:  $p_{1-4} < 0,001$ .

**Таблица 5.** Выявление специфических IgG к PVB19 в образцах крови условно здоровых жителей ГР ( $n = 321$ ) в разных возрастных группах

**Table 5.** Identification of anti-PVB19 IgG antibodies in blood samples of healthy residents of the Republic of Guinea ( $n = 321$ ) in different age groups

Возраст, годы Age, years	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Из них IgG+ к PVB19 Of these, IgG+ to PVB19	
		абс. abs.	%, $M \pm m$
18–20	18	8	$44,4 \pm 11,7$
21–30	78	42	$53,8 \pm 5,6$
18–30	96	50	$52,1 \pm 5,1$
31–40	88	47	$53,4 \pm 5,3$
$\geq 41$	137	76	$55,5 \pm 4,2$
Всего Total	321	173	$53,9 \pm 2,7$

Доли серопозитивных лиц мужского и женского пола в целом существенно не различались: 57,4 и 47,9% соответственно. Однако в возрастных группах 18–20 и 31–40 лет отмечено значительное преобладание серопозитивных лиц мужского пола по отношению к защищенным от инфекции женщинам: 57,1% против 36,4% и 59,4% против 31,6% соответственно. В группах 21–30 лет и 41 год и старше доли серопозитивных лиц мужского и женского пола существенно не различались, находясь на уровнях 51,2–57,1%.

Таким образом, IgG к PVB19 были обнаружены почти в половине образцов первой из исследованных возрастных групп (18–20 лет). Сопоставимые данные получены для лиц этой возрастной группы и в других регионах (Россия, Казахстан).

### Обсуждение

При отсутствии специфической профилактики очевидно наличие постоянной циркуляции PVB19 в разных регионах мира [22]. В проведенном исследовании IgG-антитела к PVB19 выявлялись во всех возрастных группах условно здоровых жителей России, Средней Азии (Евразия) и ГР (Западная Африка). При этом отмечена общая тенденция повышения уровня серопревалентности к PVB19 среди лиц старших возрастов во всех изученных группах населения, что коррелирует с данными других авторов [12, 17, 18]. Вместе с тем были выявлены и различия в формировании коллективного иммунитета среди жителей разных стран.

Наибольшие показатели серопревалентности выявлены в Санкт-Петербурге и Нур-Султане; наименьшие — среди трудовых мигрантов из малонаселенных районов Узбекистана и Таджикистана. Промежуточное положение занял показатель серопревалентности к PVB19 в ГР при изучении образцов крови, полученных как от жителей столицы (Конакри), так и от жителей ГР, проживающих в малонаселенных районах страны.

В крупных мегаполисах (Санкт-Петербург и Нур-Султан) с высокой плотностью населения, выраженными миграционными процессами, высокой долей организованных детей, посещающих дошкольные и школьные образовательные учреждения, а также с большим количеством учащихся средних и высших образовательных учреждений (в том числе военных), с проживанием иногородних учащихся в общежитиях и казармах, создаются условия для активной циркуляции PVB19.

Действительно, формирование коллективного иммунитета к PVB19 у жителей Нур-Султана коррелирует с аналогичными показателями, полученными при тестировании сывороток крови условно здоровых жителей Санкт-Петербурга. Совокупная доля серопозитивных лиц 18–30 лет составила  $58,6 \pm 2,9$  и  $53,5 \pm 5,3\%$  соответственно, превышая аналогич-

ный показатель, полученный при исследовании сывороток крови трудовых мигрантов из Узбекистана и Таджикистана, —  $38,0 \pm 6,8\%$ . Доля серопозитивных лиц старше 40 лет также сопоставима:  $72,5 \pm 3,6\%$  в Санкт-Петербурге и  $80,5 \pm 4,2\%$  в Нур-Султане.

Распространению инфекции способствуют длительные тесные контакты, что подтверждается высокими показателями серопревалентности среди курсантов одного из военных училищ Санкт-Петербурга, где интенсивное формирование коллективного иммунитета к PVB19 (85,2% серопозитивных) регистрировали уже среди лиц 18–20 лет, что существенно превышало показатель серопревалентности в той же возрастной группе условно здоровых жителей Санкт-Петербурга (33,3%).

Обследованные нами трудовые мигранты из Средней Азии прибыли из районов с невысокой плотностью населения, слабо выраженной внутренней миграцией, небольшим количеством средних специальных и высших учебных заведений. Этим, видимо, объясняется существенно меньшее количество серопозитивных к PVB19 лиц среди граждан Узбекистана и Таджикистана по отношению к жителям Санкт-Петербурга. Мигранты с низким уровнем популяционного иммунитета, безусловно, являются мишенью для инфицирования PVB19. Скудность проживания этих этнических общин, характерная для их пребывания в Санкт-Петербурге, может способствовать активному распространению инфекции с вовлечением в инфекционный процесс чувствительных к инфицированию постоянных жителей города, в том числе доноров крови, беременных женщин, лиц с первичными и вторичными иммунодефицитами, больных анемиями, реципиентов крови и костного мозга, онкологических больных.

Наличие гендерных различий при формировании коллективного иммунитета к PVB19 связано, видимо, с социальными факторами и проявлялось при исследовании сывороток крови жителей Казахстана и ГР. В Нур-Султане гуморальный иммунитет к PVB19 более интенсивно формировался среди мужчин в возрасте 18–20 лет. Эти результаты могут свидетельствовать о более активной циркуляции вируса среди молодых мужчин Нур-Султана.

Среди обследованных жителей ГР также выявлено почти двукратное преобладание доли серопозитивных к PVB19 молодых мужчин по отношению к защищенным от инфекции женщинам тех же возрастных групп, что сопоставимо с гендерными различиями, выявленными среди жителей Нур-Султана. Преобладание серопозитивных лиц женского пола было отмечено в старших возрастных группах жителей ГР, что, вероятно, связано с более тесным контактом женщин с детьми в семьях.

Однако в каждой из лабораторно обследованных групп населения разных географических регионов выявлены и серонегативные лица, что

может способствовать вовлечению в инфекционный процесс лиц из групп риска. Ранее показано, что среди обследованных беременных женщин, проживающих в Санкт-Петербурге, около 50% чувствительны к заражению PVB19 [23]. Установлено, что инфицирование парвовирусом B19 пациентов с хроническими анемиями, а также онкологических больных может отягощать течение и ухудшать прогноз основного заболевания [24, 25].

Полученные результаты подтверждают актуальность ПВИ не только для детей и подростков, но и для взрослых. Так, постоянное выявление случаев ПВИ в разных возрастных группах лиц, проживающих на территориях Северо-Западного федерального округа, подтверждается проведенными ранее исследованиями [26]. Определение серопревалентности к PVB19 было проведено рядом зарубежных авторов среди доноров крови Южной Африки, Ирана, Китая, Бразилии [27–30]. Серопозитивные к PVB19 лица были выявлены в каждом из проведенных исследований, подтверждая факт широкого распространения ПВИ. Их доля в данной целевой группе колебалась от 27,6% (Иран) до 62,2% (ЮАР), что, в общем, коррелирует с полученными нами данными и также свидетельствует о наличии факторов, влияющих на формирование коллективного иммунитета к PVB19.

### Заключение

Полученные результаты подтверждают факт распространения ПВИ в разных географических регионах. Наиболее интенсивно коллективный иммунитет формируется в условиях длительного тесного контакта.

Вместе с тем повсеместно выявлены серонегативные лица. Наличие восприимчивых к заражению лиц может привести к распространению инфекции в группах риска — среди беременных женщин, лиц с первичными и вторичными иммунодефицитами, больных анемиями, реципиентов крови и костного мозга, онкологических больных.

### ЛИТЕРАТУРА

- Levy R., Weissman A., Blomberg G., Hagay Z.J. Infection by parvovirus B19 during pregnancy: a review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 1997; 52(4):254-9. DOI: <http://doi.org/10.1097/00006254-199704000-00023>
- Васильев В.В., Мурина Е.А., Сидоренко С.В., Мукомолова А.Л., Куюмчян С.Х., Воронина О.Л. и др. Парвовирусная (B19V) инфекция у беременных и детей раннего возраста. *Журнал инфектологии.* 2011; 3(4): 26-33. DOI: <http://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-4-26-33>
- Puccetti C., Contoli M., Bonvicini F., Cervi F., Simonazzi G., Gallinella G., et al. Parvovirus B19 in pregnancy: possible consequences of vertical transmission. *Prenatal Diagnosis.* 2012; 32(9): 897-902. DOI: <http://doi.org/10.1002/pd.3930>
- Курцер М.А., Гнетская В.А., Мальмберг О.Л., Белковская М.Э., Лукаш Е.Н., Шипулин Г.А. и др. Неиммунная водянка плода: диагностика и тактика. *Акушерство и гинекология.* 2009; (2): 37-40.
- Лушнова И.В. Парвовирусная B19 инфекция. *Педиатр.* 2010; 1(2): 115-8.
- Макаров О.В., Алешкин В.А., Савченко Т.Н., ред. *Инфекции в акушерстве и гинекологии.* М.: МЕДпресс-информ; 2007.
- Lassen J., Jensen A.K., Bager P., Pedersen C.B., Panum I., Nørgaard-Pedersen B., et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 2012; 176(9): 803-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/aje/kws177>
- Wong S., Zhi N., Filippone C., Keyvanfar K., Kajigaya S., Brown K.E., et al. Ex Vivo-generated CD36+ erythroid progenitors are highly permissive to Human Parvovirus B19 replication. *J. Virol.* 2008; 82(5): 2470-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02247-07>
- Munakata Y., Saito-Ito T., Kumura-Ishii K., Huang J., Kodera T., Ishii T., et al. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood.* 2005; 106(10): 3449-56. DOI: <http://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0536>
- Bua G., Manaresi E., Bonvicini F., Gallinella G. Parvovirus B19 replication and expression in differentiating erythroid progenitor cells. *PLoS One.* 2016; 11(2): e0148547. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148547>
- Lefrère J.J., Servant-Delmas A., Candotti D., Mariotti M., Thomas I., Brossard Y., et al. Persistent B19 infection in immunocompetent individuals: implications for transfusion safety. *Blood.* 2005; 106(8): 2890-5. DOI: <http://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1053>
- Никишов О.Н., Кузин А.А., Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н. Клинико-эпидемиологические особенности и профилактика парвовирусной инфекции. *Военно-медицинский журнал.* 2016; 337(8): 45-50.
- Win N., Lee E., Needs M., Homeida S., Stasi R. Profound sustained reticulocytopenia and anaemia in an adult patient with sickle cell disease. *Transfus. Med.* 2014; 24(6): 418-20. DOI: <http://doi.org/10.1111/tme.12168>
- Чернова Т.М., Дубко М.Ф. Парвовирус B19 как причина кардита в сочетании с миоцитом. *Медицинский совет.* 2018; (2): 190-3. DOI: <http://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-2-190-193>
- Элижбаева М.А., Февралева И.С., Глинщикова О.А., Сильвейстрова О.Ю., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А. и др. Выявление парвовируса B19 в крови российских доноров. *Гематология и трансфузиология.* 2011; 56(2): 10-3.
- Riipinen A., Väisänen E., Nuutila M., Sallmen M., Karikoski R., Lindbohm M.L., et al. Parvovirus B19 infection in fetal deaths. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47(12): 1519-25. DOI: <http://doi.org/10.1086/593190>
- Kelly H.A., Siebert D., Hammond R., Leydon J., Kiely P., Maskill W. The age-specific prevalence of human parvovirus immunity in Victoria, Australia compared with other parts of the world. *Epidemiol. Infect.* 2000; 124(3): 449-57. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268899003817>
- Mossong J., Hens N., Friederichs V., Davidkin I., Broman M., Litwinka B., et al. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection, and maternal risk of infection. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136(8): 1059-68. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268807009661>
- Elnifro E., Nisha A.K., Almabsoot M., Daeki A., Mujber N., Muscat J. Seroprevalence of parvovirus B19 among pregnant women in Tripoli, Libya. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2009; 3(3): 218-20. DOI: <http://doi.org/10.3855/jidc.38>
- Pedranti M.S., Barbero P., Wolff C., Ghiotto L.M., Zapata M., Adamo M.P. Infection and immunity for human parvovirus B19 in patients with febrile exanthema. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140(3): 454-61. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268811000823>
- Nicolay N., Cotter S. Clinical and epidemiological aspects of parvovirus B19 infections in Ireland, January 1996 – June 2008. *Eurosurveill.* 2009; 14(25): 19249.

22. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю. Парвовирус В19 человека: характеристика возбудителя, распространение и диагностика обусловленной им инфекции. *Инфекция и иммунитет*. 2013; 3(4): 311-22.
23. Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н., Бичурина М.А., Ялина Л.В., Кутуева Ф.Р. Распространение парвовирусной инфекции в Северо-Западном федеральном округе России. *Журнал инфектологии*. 2011; 3(4): 44-8.
24. Khamitova I.V., Lavrentyeva I.N., Averyanova M.Yu., Chukhlovina A.B., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Parvovirus B19 incidence, specific antibody response, and delayed hematopoietic recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell. Ther. Transplant*. 2018; 7(1): 36-43. DOI: <http://doi.org/10.18620/ct-1866-8836-2018-7-1-36-43>
25. Лаврентьева И.Н., Хамитова И.В., Слита А.В., Левковский А.Е., Диало А.А., Диало А.К. и др. Влияние коинфицирования РВВ19 и *Plasmodium Falciparum* на течение и прогноз малярии. *Инфекция и иммунитет*. 2018; 8(3): 383-7. DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-383-387>
26. Лаврентьева И.Н., Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Хамитова И.В., Никишов О.Н., Кузин А.А. Маркеры парвовирусной инфекции у лиц с экзантемными заболеваниями и в группах риска. *Журнал инфектологии*. 2019; 11(3): 110-7.
27. Francois K.L., Parboosing R., Moodley P. Parvovirus B19 in South African blood donors. *J. Med. Virol.* 2019; 91(7): 1217-23. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25450>
28. Zadsar M., Aghakhani A., Banifazl M., Kazemimanesh M., Tabatabaei Yazdi S.M., Mamishi S., et al. Seroprevalence, molecular epidemiology and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in Iranian blood donors. *J. Med. Virol.* 2018; 90(8): 1318-22. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25195>
29. Li X., Lin Z., Liu J., Tang Y., Yuan X., Li N., et al. Overall prevalence of human parvovirus B19 among blood donors in mainland China: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99(17): e19832. DOI: <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000019832>
30. Slavov S.N., Rodrigues E.S., Sauvage V., Caro V., Diefenbach C.F., Zimmermann A.M., et al. Parvovirus B19 seroprevalence, viral load, and genotype characterization in volunteer blood donors from southern Brazil. *J. Med. Virol.* 2019; 91(7): 1224-31. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25453>
- case-control study. *Am. J. Epidemiol.* 2012; 176(9): 803-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/aje/kws177>
8. Wong S., Zhi N., Filippone C., Keyvanfar K., Kajigaya S., Brown K.E., et al. Ex Vivo-generated CD36+ erythroid progenitors are highly permissive to Human Parvovirus B19 replication. *J. Virol.* 2008; 82(5): 2470-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JVI.02247-07>
9. Munakata Y., Saito-Ito T., Kumura-Ishii K., Huang J., Kodera T., Ishii T., et al. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood*. 2005; 106(10): 3449-56. DOI: <http://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0536>
10. Bua G., Manaresi E., Bonvicini F., Gallinella G. Parvovirus B19 replication and expression in differentiating erythroid progenitor cells. *PLoS One*. 2016; 11(2): e0148547. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148547>
11. Lefrère J.J., Servant-Delmas A., Candotti D., Mariotti M., Thomas I., Brossard Y., et al. Persistent B19 infection in immunocompetent individuals: implications for transfusion safety. *Blood*. 2005; 106(8): 2890-5. DOI: <http://doi.org/10.1182/blood-2005-03-1053>
12. Nikishov O.N., Kuzin A.A., Antipova A.Yu., Lavrent'eva I.N. Clinical and epidemiological peculiarities and prophylaxis of parvoviral infection. *Voенно-медицинский журнал*. 2016; 337(8): 45-50. (in Russian)
13. Win N., Lee E., Needs M., Homeida S., Stasi R. Profound sustained reticulocytopenia and anaemia in an adult patient with sickle cell disease. *Transfus. Med.* 2014; 24(6): 418-20. DOI: <http://doi.org/10.1111/tme.12168>
14. Chernova T.M., Dubko M.F. Parvovirus B19 as a cause of carditis in combination with myozitis. *Meditsinskiy sovet*. 2018; (2): 190-3. DOI: <http://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-2-190-193> (in Russian)
15. Elizhbaeva M.A., Fevraleva I.S., Glinshchikova O.A., Sil'veystrova O.Yu., Shipulina O.Yu., Domanova E.A., et al. Detection of B19 parvovirus in the blood of Russian donors. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2011; 56(2): 10-3. (in Russian)
16. Riipinen A., Väisänen E., Nuutila M., Sallmen M., Karikoski R., Lindbohm M.L., et al. Parvovirus B19 infection in fetal deaths. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47(12): 1519-25. DOI: <http://doi.org/10.1086/593190>
17. Kelly H.A., Siebert D., Hammond R., Leydon J., Kiely P., Maskill W. The age-specific prevalence of human parvovirus immunity in Victoria, Australia compared with other parts of the world. *Epidemiol. Infect.* 2000; 124(3): 449-57. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268899003817>
18. Mossong J., Hens N., Friederichs V., Davidkin I., Broman M., Litwinska B., et al. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection, and maternal risk of infection. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136(8): 1059-68. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268807009661>
19. Elnifro E., Nisha A.K., Almabsoot M., Daeki A., Mujber N., Muscat J. Seroprevalence of parvovirus B19 among pregnant women in Tripoli, Libya. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2009; 3(3): 218-20. DOI: <http://doi.org/10.3855/jidc.38>
20. Pedranti M.S., Barbero P., Wolff C., Ghietto L.M., Zapata M., Adamo M.P. Infection and immunity for human parvovirus B19 in patients with febrile exanthema. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140(3): 454-61. DOI: <http://doi.org/10.1017/S0950268811000823>
21. Nicolay N., Cotter S. Clinical and epidemiological aspects of parvovirus B19 infections in Ireland, January 1996 – June 2008. *Eurosurveill.* 2009; 14(25): 19249.
22. Lavrent'eva I.N., Antipova A.Yu. Human parvovirus B19: virus characteristics, distribution and diagnostics of parvovirus infection. *Infektsiya i immunitet*. 2013; 3(4): 311-22. (in Russian)
23. Antipova A.Yu., Lavrent'eva I.N., Bichurina M.A., Lyalina L.V., Kutueva F.R. Parvovirus B19 infection prevalence in North-West Russia. *Zhurnal infekologii*. 2011; 3(4): 44-8. (in Russian)
24. Khamitova I.V., Lavrentyeva I.N., Averyanova M.Yu., Chukhlovina A.B., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Parvovirus B19

## REFERENCES

1. Levy R., Weissman A., Blomberg G., Hagay Z.J. Infection by parvovirus B19 during pregnancy: a review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 1997; 52(4):254-9. DOI: <http://doi.org/10.1097/00006254-199704000-00023>
2. Vasil'ev V.V., Murina E.A., Sidorenko S.V., Mukomolova A.L., Kuyumch'yan S.Kh., Voronina O.L., et al. Parvovirus (B19V) infection in pregnant women and infants. *Zhurnal infekologii*. 2011; 3(4): 26-33. DOI: <http://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-4-26-33> (in Russian)
3. Puccetti C., Contoli M., Bonvicini F., Cervi F., Simonazzi G., Gallinella G., et al. Parvovirus B19 in pregnancy: possible consequences of vertical transmission. *Prenatal Diagnosis*. 2012; 32(9): 897-902. DOI: <http://doi.org/10.1002/pd.3930>
4. Kurtser M.A., Gnetetskaya V.A., Mal'mberg O.L., Belkovskaya M.E., Lukash E.N., Shipulin G.A., et al. Nonimmune fetal hydrops: diagnosis and tactics. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2009; (2): 37-40. (in Russian)
5. Lushnova I.V. Parvovirus (B19V) infection. *Pediatr.* 2010; 1(2): 115-8. (in Russian)
6. Makarov O.V., Aleshkin V.A., Savchenko T.N., eds. *Infections in Obstetrics and Gynecology [Infektsii v akusherstve i ginekologii]*. Moscow: MEDpress-inform; 2007. (in Russian)
7. Lassen J., Jensen A.K., Bager P., Pedersen C.B., Panum I., Nørgaard-Pedersen B., et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based

- incidence, specific antibody response, and delayed hematopoietic recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell. Ther. Transplant.* 2018; 7(1): 36-43.  
DOI: <http://doi.org/10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-1-36-43>
25. Lavrent'eva I.N., Khamitova I.V., Slita A.V., Levkovskiy A.E., Dialo A.A., Dialo A.K., et al. Impact of coinfection of PVB19 on the course and prognosis of malaria caused by Plasmodium falciparum. *Infektsiya i immunitet.* 2018; 8(3): 383-7.  
DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-383-387> (in Russian)
26. Lavrent'eva I.N., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Khamitova I.V., Nikishov O.N., Kuzin A.A. Parvovirus infection markers in persons with exantemic diseases and in risk groups. *Zhurnal infektologii.* 2019; 11(3): 110-7. (in Russian)
27. Francois K.L., Parboosing R., Moodley P. Parvovirus B19 in South African blood donors. *J. Med. Virol.* 2019; 91(7): 1217-23.  
DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25450>
28. Zadsar M., Aghakhani A., Banifazl M., Kazemimanesh M., Tabatabaei Yazdi S.M., Mamishi S., et al. Seroprevalence, molecular epidemiology and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in Iranian blood donors. *J. Med. Virol.* 2018; 90(8): 1318-22.  
DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25195>
29. Li X., Lin Z., Liu J., Tang Y., Yuan X., Li N., et al. Overall prevalence of human parvovirus B19 among blood donors in mainland China: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2020; 99(17): e19832.  
DOI: <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000019832>
30. Slavov S.N., Rodrigues E.S., Sauvage V., Caro V., Diefenbach C.F., Zimmermann A.M., et al. Parvovirus B19 seroprevalence, viral load, and genotype characterization in volunteer blood donors from southern Brazil. *J. Med. Virol.* 2019; 91(7): 1224-31. DOI: <http://doi.org/10.1002/jmv.25453>

**Информация об авторах:**

**Лаврентьева Ирина Николаевна** — д.м.н., зав. лаб. экспериментальной вирусологии, ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2188-6547>.  
E-mail: [pasteur.lawr@mail.ru](mailto:pasteur.lawr@mail.ru)

**Хамитова Ирина Викторовна** — зав. Центральной клинико-диагностической лаборатории ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1966-7860>.  
E-mail: [div-o@mail.ru](mailto:div-o@mail.ru)

**Jacob Camara** — researcher, Laboratory of hemorrhagic hemorrhagic fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Guinea.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4837-0206>.  
E-mail: [jacob2240@gmail.com](mailto:jacob2240@gmail.com)

**Антипова Анастасия Юрьевна** — к.б.н., н.с. лаб. экспериментальной вирусологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7763-535X>.  
E-mail: [anti130403@mail.ru](mailto:anti130403@mail.ru)

**Бичурина Маина Александровна** — д.м.н., зав. вирусологической лабораторией центра по элиминации кори и краснухи, ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5184-0315>.

**Magassouba N. Faly** — PhD, Chief, Laboratory of hemorrhagic fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Guinea.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3760-6642>.  
E-mail: [cmagassouba01@gmail.com](mailto:cmagassouba01@gmail.com)

**Никитов Олег Николаевич** — к.м.н., преподаватель каф. общей и военной эпидемиологии ФГБВОУ ВПО «ВМА им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3677-1734>.  
E-mail: [nikishov.oleg2015@yandex.ru](mailto:nikishov.oleg2015@yandex.ru)

**Кузин Александр Александрович** — д.м.н., доц. каф. общей и военной эпидемиологии ФГБВОУ ВПО «ВМА им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9154-7017>.  
E-mail: [paster-spb@mail.ru](mailto:paster-spb@mail.ru)

**Семенов Александр Владимирович** — д.б.н., зав. лаб. вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции, зам. директора по инновационной работе ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>.  
E-mail: [alexvsemenov@yahoo.com](mailto:alexvsemenov@yahoo.com)

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Irina N. Lavrentieva** — D. Sci. (Med.), Chief, Laboratory of experimental virology, Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2188-6547>.  
E-mail: [pasteur.lawr@mail.ru](mailto:pasteur.lawr@mail.ru)

**Irina V. Khamitova** — Chief, Central clinic diagnostic laboratory, Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1966-7860>.  
E-mail: [div-o@mail.ru](mailto:div-o@mail.ru)

**Jacob Camara** — researcher, laboratory of hemorrhagic fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Guinea.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4837-0206>.  
E-mail: [jacob2240@gmail.com](mailto:jacob2240@gmail.com)

**Anastasia Yu. Antipova** — PhD (Biol.), researcher, Laboratory of experimental virology, Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7763-535X>.  
E-mail: [anti130403@mail.ru](mailto:anti130403@mail.ru)

**Maina A. Bichurina** — D. Sci. (Med.), Chief, Virology laboratory, Center for the elimination of measles and rubella, Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5184-0315>.

**Magassouba N. Faly** — PhD, Chief, Laboratory of hemorrhagic fevers, Gamal Abdel Nasser University, Conakry, Guinea.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3760-6642>.  
E-mail: [cmagassouba01@gmail.com](mailto:cmagassouba01@gmail.com)

**Oleg N. Nikishov** — PhD (Med.), lecturer of the Department of general and military epidemiology, S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3677-1734>.  
E-mail: [nikishov.oleg2015@yandex.ru](mailto:nikishov.oleg2015@yandex.ru)

**Alexander A. Kuzin** — D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of general and military epidemiology, S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9154-7017>.  
E-mail: [paster-spb@mail.ru](mailto:paster-spb@mail.ru)

**Alexander V. Semenov** — D. Sci. (Biol.), Chief, Laboratory of HIV immunology and virology, Vice-director, Saint Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>.  
E-mail: [alexvsemenov@yahoo.com](mailto:alexvsemenov@yahoo.com)

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



## Характеристика назофарингеального носительства бактериальных патогенов у детей и взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в Хабаровске (2015–2018 гг.)

Шмыленко В.А.<sup>1,2✉</sup>, Бондаренко А.П.<sup>1</sup>, Троценко О.Е.<sup>1</sup>, Туркутюков В.Б.<sup>2</sup>, Базыкина Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», 690002, Владивосток, Россия

**Цель работы** — по материалам четырёхлетних наблюдений представить характеристику назофарингеального носительства бактериальных патогенов у детей и взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в г. Хабаровск.

**Материалы и методы.** Мазки из ротоглотки и носоглотки от 7043 детей и взрослых исследованы классическим бактериологическим методом. Для диагностики микроорганизмов использованы: колумбийский агар с добавлением 5% дефибринированной крови барана с инкубацией посевов в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>, бактериологический анализатор «Vitek 2 Compact», метод ПЦР в реальном времени для подтверждения культуры *S. pyogenes*.

**Результаты.** Выявлен высокий уровень носительства назофарингеальных патогенов (76,4%) со следующим ранговым положением основных возбудителей: *S. pneumoniae* (47%), *M. catarrhalis* (30,4%), *H. influenzae* (17,5%), *S. pyogenes* (5,2%). Возрастные группы риска — дети 0–6 лет для *S. pneumoniae* и дети 7–12 лет для *S. pyogenes*. Намечающийся рост уровней носительства *S. pneumoniae* в 2018 г. сопровождался повышением регистрируемой заболеваемости пневмококковой пневмонией.

**Заключение.** Назофарингеальное носительство *S. pneumoniae* обуславливает высокий риск развития внебольничных пневмоний и других пневмококк-ассоциированных заболеваний преимущественно у детей.

**Ключевые слова:** респираторные заболевания; назофарингеальные бактериальные патогены; тенденции уровней носительства.

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

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

**Для цитирования:** Шмыленко В.А., Бондаренко А.П., Троценко О.Е., Туркутюков В.Б., Базыкина Е.А. Характеристика назофарингеального носительства бактериальных патогенов у детей и взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в Хабаровске (2015–2018 гг.). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 242–250.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-6>

Поступила 07.11.2019

Принята в печать 20.02.2020

## Characteristics of Nasopharyngeal Carriage of Bacterial Pathogens in Children and Adults Suffering from Recurrent Respiratory Infections in Khabarovsk City in 2015–2018

Vlada A. Shmylenko<sup>1,2✉</sup>, Albina P. Bondarenko<sup>1</sup>, Olga E. Trotsenko<sup>1</sup>, Vyacheslav B. Turkutjukov<sup>2</sup>, Elena A. Bazykina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 680610, Khabarovsk, Russia;

<sup>2</sup>Pacific State Medical University, 690002, Vladivostok, Russia

**Objective.** To designate the nasopharyngeal carriage of bacterial pathogens among children and adults diagnosed with recurrent respiratory diseases residing in the Khabarovsk city during a four-year period.

**Materials and methods.** Nasopharyngeal and oral swabs obtained from 7,043 children and adults were tested using classical bacteriological methods. In order to grow “difficult-to-culture” microorganisms a columbian agar

with addition of 5% defibrinated sheep blood, incubation in the atmosphere rich with CO<sub>2</sub> (5%), bacteriological analyzer Vitek 2 Compact were used. Real-time PCR was used to confirm the identification of *S. pyogenes*.

**Results.** A high level of nasopharyngeal pathogens carriage (47%) was detected. The most prevalent microorganisms were as follows: *S. pneumoniae* (47%), *M. catarrhalis* (30.4%), *H. influenzae* (17.5%), *S. pyogenes* (5.2%). The age groups at risk were children aged 0–6 years for *S. pneumoniae* and children aged 7–12 years for *S. pyogenes*. An emerging trend is the level of nasopharyngeal carriage of *S. pneumoniae* observed in 2018 was followed by the increase of registered incidence of pneumococcal pneumonia.

**Conclusion.** Nasopharyngeal carriage of *S. pneumoniae* imposes a high risk of community-acquired pneumonia and other pneumococci-associated diseases, predominantly in children.

**Keywords:** respiratory infections; nasopharyngeal bacterial pathogens; tendencies of nasopharyngeal carriage levels.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Shmylenko V.A., Bondarenko A.P., Trotsenko O.E., Turkutyukov V.B., Bazykina E.A. Characteristics of nasopharyngeal carriage of bacterial pathogens in children and adults suffering from recurrent respiratory infections in Khabarovsk city in 2015–2018. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 242–250. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-6>

Received 7 November 2020

Accepted 20 February 2020

## Введение

Часто болеющие дети — это группа детей, характеризующаяся более высоким, чем у их сверстников, уровнем заболеваемости острыми респираторными инфекциями [1].

В современной литературе часто болеющих детей относят к группе лиц с рецидивирующим или рекуррентным течением острых респираторных заболеваний. Частота встречаемости этой группы диспансерного наблюдения в детской популяции большинства стран мира находится на уровне 15–50% [1, 2]. На долю заболеваний лор-органов у часто болеющих детей приходится 50–70% случаев [3–5].

Обсуждаются различные точки зрения на причины частых респираторных инфекций. Первая — дисфункция иммунной системы. Вторая — генетическая предрасположенность, наследственно обусловленный «поздний старт» иммунной системы [1, 6]. В последние годы эта проблема рассматривается также с позиций оценки микробиоты верхних дыхательных путей и реализации её патогенного влияния на организм человека. Внедрение современных технологий изучения микробиома человека (высокопродуктивное секвенирование), наличие открытых баз данных микроорганизмов (NCBI/BLAST) позволили расширить наши представления о формировании микробиоценоза верхних дыхательных путей, а также дисбиоза. Так, получена информация о чрезвычайной сложности микробных сообществ в этом локусе [3, 7, 8]. Микробиоценоз респираторного тракта начинает формироваться в перинатальный и неонатальный периоды, в том числе за счёт присоединения микрофлоры родовых путей матери. Наиболее близкий к материнской флоре носоглоточный микробиом был выявлен у детей в двухмесячном

возрасте [9]. Он представляет собой сложную динамическую структуру, в состав которой входят резидентные (большая часть) и транзиторные микроорганизмы. Резидентная флора приспособлена к колонизации в этом биотопе, участвует в поддержании общего гомеостаза и защите организма от обсеменения болезнетворными микроорганизмами [3].

В период 1-го года жизни происходит прогрессивное изменение микробиома носоглотки в сторону заселения условно-патогенной флорой: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* и др. [9]. При этом условно-патогенная флора, в частности *S. aureus*, имеет множество факторов патогенности, способность продуцировать агрессивные ферменты и высвобождать гистамин из клеток макроорганизма, что является основой для развития аллергического воспаления органов дыхания. Некоторые представители транзиторной микрофлоры носоглоточного локуса (родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Haemophilus*, *Streptococcus* и др.) могут продуцировать гистамин самостоятельно, что служит пусковым механизмом для атопического воспаления и патологии носа, глотки, бронхов [10]. R.P. Dickson и соавт. [11] заостряют внимание на том, что воспаление при хронических заболеваниях респираторного тракта интенсивно поддерживается дисбиотическими нарушениями на слизистых оболочках дыхательных путей (dysbiosis — inflammation cycle). Отмечается при этом, что дисбиоз поддерживает воспаление, а воспаление — дисбиоз. Клинически это проявляется хроническим ринитом, синуситом, отитом, аденоидитом, тонзиллофарингитом и т.п. По мнению тех же авторов, dysbiosis — inflammation cycle — ключевое звено патогенеза рецидивирующих респираторных инфекций у детей, через которое может происходить

переход рецидивирующих инфекций респираторного тракта в хронические.

Таким образом, изучение микробиома верхних дыхательных путей в норме и при патологии является сложной, многофакторной задачей, позволяет установить механизмы и закономерности формирования бактериальной флоры в различных биотопах этих путей [3]. Углублённый анализ носительства назофарингеальных патогенов позволит выявить факторы и группы риска заболеваний органов дыхания.

Необходимым условием для выполнения этой задачи является усовершенствование методических приёмов исследования микрофлоры и эпидемиологического анализа назофарингеального бактериального носительства и его последствий.

Цель исследований: по материалам четырёхлетних наблюдений (2015–2018 гг.) представить характеристику назофарингеального носительства бактериальных патогенов у детей и взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в г. Хабаровск.

### Материалы и методы

Изучена микрофлора зева и носа 7043 детей и взрослых с респираторной патологией, находившихся на амбулаторном этапе наблюдения в 2015–2018 гг., в том числе 2820 детей в возрасте 0–6 лет, 702 детей возрастной группы 7–12 лет, 273 подростков 13–18 лет и 3248 взрослых пациентов.

Отбор проб для исследования проводился в соответствии с действующими нормативными документами [12]. Материалом для исследования явились мазки с задней стенки глотки и миндалин, а также из носа, взятые при глубоком введении стерильных тампонов в носовые ходы и помещённые в транспортную среду Стюарта. Время между забором материала и началом исследования не превышало 2 ч.

Посев материала проводили тампоном на оптимальный для выделения пневмотропных микроорганизмов набор питательных сред (кровяной агар (КА) с добавлением 3,5% лошадиной сыворотки и 5% эритроцитов барана, шоколадный агар, желточно-солевой агар (ЖСА), среда Эндо, среда Сабуро, сахарный бульон), позволяющий выявить основные патогены. При посеве на КА вначале посевным тампоном делали «площадку» на поверхности  $\frac{1}{3}$  чашки, затем с помощью бактериологической петли «растягивали» посевной материал с площадки, производя по 10–12 перпендикулярных к площадке штрихов на остальную поверхность чашки. Такой приём позволял получить разреженный рост изолированных колоний. Дополнительно мы применяли метод «подкормки» роста гемофильных бактерий на КА [13, 14]. Для этого по центру чашки Петри с посевом мазков из носа проводили подсев бульонной культуры гемолитического стафилококка. При

росте стафилококка по обе стороны штриха образуется зона гемолиза, в которой содержатся продукты распада эритроцитов — ростовые факторы X и V, необходимые гемофильным бактериям.

Учёт результатов посевов проводили через 18–24 ч их инкубации в термостате (для КА — в CO<sub>2</sub>-инкубаторе). Второй учёт производили через 48 ч хранения чашек при комнатной температуре.

На чашках с КА рост гемофилов формировался вокруг пневмококков, стафилококков («сателлитный рост»). В случае гемофильной моноинфекции гемофилы вырастали в зоне гемолиза вдоль штриха подсеянного гемолитического стафилококка. Повторный просмотр чашек через 48 ч позволял более полно оценить состав выросшей флоры и количественные соотношения компонентов, растущих в условиях сложного взаимодействия микробных ассоциаций. При отсутствии роста в прямом посеве проводили высеивание на КА и ЖСА со среды обогащения (сахарного бульона).

Выросшие микроорганизмы идентифицировали с использованием наиболее рационального в каждом случае набора методов:

- классические тесты с оптохином, желчными кислотами, сапонином, бацитрацином;
- агглютинирующие сыворотки для идентификации стрептококков;
- тест-системы ПЦР для подтверждения *Streptococcus pyogenes*;
- хромогенные среды;
- пёстрые ряды.

Опорными признаками для идентификации моракселл выбраны:

- скольжение колоний по поверхности агара при сдвигании петлёй;
- положительный тест на оксидазу и каталазу;
- отсутствие ферментации глюкозы и лактозы.

Окончательную идентификацию осуществляли в бактериологическом анализаторе «Vitek 2 Compact».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Вычисляли среднее значение, ошибку средней величины, критерий  $\chi^2$  Пирсона, в том числе с поправкой Йетса ( $\chi^2_{\text{Йетса}}$ ), и точный критерий Фишера ( $p_{\text{Fisher exact}}$ ). Даты в знаменателе обозначения  $\chi^2$  означают сравниваемые годы, например, сравнивались значения 2015 и 2018 гг. ( $\chi^2_{2015;2018}$ ). Средний темп прироста ( $T_{\text{пр}}$ ) вычисляли методом наименьших квадратов. Нулевая гипотеза отклонялась при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Перечень основных бактериальных патогенов и частота их выделения у лиц разных возрастных групп в Хабаровске представлены в табл. 1. В течение 4 лет на амбулаторном этапе были обследованы

**Таблица 1.** Частота выделения основных бактериальных патогенов у лиц разных возрастных групп в г. Хабаровск в 2015–2018 гг. ( $n = 7043$ )**Table 1.** Frequency of isolation of the main bacterial pathogens in individuals of different age groups in Khabarovsk city in 2015–2018 ( $n = 7043$ )

Возбудители Pathogens	Возраст пациента Age of patients								Всего Total	
	0–6		7–12		13–18		19 и старше 19 and older			
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
<i>S. pneumoniae</i>	683	24,2	60	8,6	7	2,6	55	1,7	805	11,4
<i>H. influenzae</i>	226	8,0	28	4,0	4	1,5	42	1,3	300	4,3
<i>M. catarrhalis</i>	443	15,7	39	5,6	4	1,5	36	1,1	522	7,4
<i>S. pyogenes</i>	42	1,5	22	3,1	3	1,1	22	0,7	89	1,3
<i>S. agalactiae</i>	0	0	4	0,6	0	0	8	0,3	12	0,17
<i>S. aureus</i>	1151	40,8	414	59	146	53,5	1037	32	2748	39,0
Энтеробактерии <i>Enterobacteria</i>	167	5,9	32	4,6	23	8,4	444	13,7	666	9,5
Неферментирующие грамотрицательные бактерии Non-fermenting gram-negative bacteria	130	4,6	15	2,1	5	1,8	69	2,1	219	3,1
Грибы рода <i>Candida</i> Fungi of the genus <i>Candida</i>	498	17,7	112	16,0	51	18,7	508	15,6	1169	16,6
Число изолятов Number of isolates	3340		726		243		2221		6530	
Отрицательный результат Negative result	439	15,6	83	11,8	49	18	963	29,7	1534	21,8
Всего обследовано лиц Total number of persons surveyed	2820	84,4	702	88,2	273	82	3248	70,3	7043	100

7043 пациента с патологией верхних дыхательных путей.

Патогенная микрофлора выявлена у 5509 пациентов из 7043 обследованных ( $78,2 \pm 0,49\%$ ). Частота обнаружения патогенов была высокой у детей всех возрастных групп ( $84,4 \pm 0,43\%$ ;  $88,2 \pm 0,38\%$ ;  $82,0 \pm 0,46\%$ ) и ниже у взрослых ( $70,3 \pm 0,54\%$ ;  $\chi^2 = 218,2$ ;  $p < 0,00001$ ). По суммарным данным наиболее часто в группе наблюдения отмечалось носительство *S. aureus* ( $39,0 \pm 0,58\%$ ) и грибов рода *Candida* ( $16,6 \pm 0,44\%$ ). Чаще всего эти два возбудителя выявлялись в ассоциациях с другими патогенами.

В последние годы в научной литературе появились данные о том, что штаммы *S. aureus*, изолируемые от назофарингеальных носителей, в том числе бессимптомных, могут обладать генетическими детерминантами патогенности, что указывает на потенциальную опасность этих микроорганизмов как возможных возбудителей эндогенных и экзогенных инфекционно-воспалительных процессов. Биотоп (слизистая полости носа) следует рассматривать

как возможный источник штаммов с патогенным потенциалом, нуждающийся в санации [15]. Эта проблема продолжает оставаться актуальной и активно обсуждается медицинским сообществом.

Вместе с тем внимание клиницистов (педиатров, отоларингологов, терапевтов) по разным причинам направлено на выявление уровней носительства четырёх патогенов: *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. pyogenes* — как наиболее значимых в патологии респираторного тракта. Три из них (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*) причастны к тяжёлым инвазивным формам. *M. catarrhalis* в иностранной литературе, как правило, относится к значимым возбудителям. В отечественных немногочисленных публикациях идёт лишь накопление информации об участии *M. catarrhalis* в патологии респираторного тракта, практически отсутствуют сведения о частоте носительства этого патогена. Отсутствие опыта выделения моракселл культуральным методом, высокая стоимость готовых тест-систем и наборов для идентификации, отсутствие ПЦР-наборов для экспресс-диагностики затрудняют

поиск и идентификацию данных микроорганизмов в клиническом материале для практических бактериологов и в некоторых случаях приводят к абсолютному их игнорированию. Эти обстоятельства не позволяют объективно оценить роль *M. catarrhalis* в патологии респираторных заболеваний [16].

Анализ состояния диагностики стрептококковых инфекций, проведённый нами при выездах на территории Дальневосточного федерального округа, а также при просмотре отчётов и лабораторных журналов бактериологических лабораторий в г. Хабаровске, демонстрирует полное отсутствие данных о выделении *S. pyogenes* или регистрацию единичных положительных случаев. Нами установлено, что на практике имеют место нарушения как на этапе забора и транспортировки материала для исследования, так и на этапе его посева. Эта информация также послужила мотивацией к изучению носительства *S. pyogenes*.

*S. pneumoniae* был выявлен у 805 человек из 7043 обследованных лиц ( $11,4 \pm 0,38\%$ ), причём статистически значимо чаще в возрастной группе 0–6 лет ( $24,2 \pm 0,51\%$ ), в сравнении с группой детей 7–12 лет ( $8,6 \pm 0,33\%$ ;  $\chi^2 = 48,2$ ;  $p < 0,0001$ ) и группами подростков ( $2,6 \pm 0,18\%$ ;  $\chi^2 = 48,6$ ;  $p < 0,0001$ ) и взрослых ( $1,7 \pm 0,15\%$ ;  $\chi^2 = 548,7$ ;  $p < 0,00001$ ).

*M. catarrhalis* по уровню носительства занимает 2-е место после *S. pneumoniae* и выявлена у 522 ( $7,4 \pm 0,31\%$ ) лиц из 7043 обследованных. Чаще она выделялась в возрастной группе 0–6 лет ( $15,7 \pm 0,43\%$ ), в 2,8 раза реже — в средней возрастной группе ( $5,6 \pm 0,27\%$ ;  $\chi^2 = 48,2$ ;  $p < 0,00001$ ) и редко — среди подростков ( $1,5 \pm 0,14\%$ ;  $\chi^2 = 39,7$ ;  $p < 0,00001$ ) и взрослых ( $1,1 \pm 0,12\%$ ;  $\chi^2 = 440,6$ ;  $p < 0,00001$ ).

*H. influenzae* выявлена у 300 из 7043 обследованных лиц ( $4,3 \pm 0,24\%$ ), также чаще в возрастной группе 0–6 лет ( $8,0 \pm 0,32\%$ ), вдвое реже — в группе детей 7–12 лет ( $4,0 \pm 0,23\%$ ;  $\chi^2 = 12,7$ ;  $p = 0,0004$ ) и ещё реже — у подростков ( $1,5 \pm 0,14\%$ ;  $\chi^2 = 14,4$ ;  $p = 0,0001$ ) и взрослых лиц ( $1,3 \pm 0,13\%$ ;  $\chi^2 = 158,3$ ;  $p < 0,00001$ ).

*S. pyogenes* обнаружен у 89 лиц из 7043 обследованных ( $1,3 \pm 0,13\%$ ). В отличие от пневмококков и гемофилов *S. pyogenes* чаще выявлялся в средней возрастной группе 7–12 лет ( $3,1 \pm 0,21\%$ ), в других возрастных группах носительство отмечено в пределах  $1,5 \pm 0,14\%$ ;  $1,1 \pm 0,12\%$ ;  $0,7 \pm 0,09\%$  соответственно. Причём если в средней детской группе отмечен статистически значимо более высокий процент выделения *S. pyogenes* по сравнению с детьми в возрасте 0–6 лет ( $\chi^2_{\text{Йерса}} = 7,6$ ;  $p = 0,006$ ) и взрослым населением ( $\chi^2_{\text{Йерса}} = 29,4$ ;  $p < 0,00001$ ), то между детьми 7–12 и подростками 13–18 лет эта разница оказалась несущественной ( $\chi^2_{\text{Йерса}} = 2,5$ ;  $p = 0,1$ ).

Таким образом, ранговое положение основных возбудителей, определяющих назофаринге-

альное носительство патогенов у лиц г. Хабаровска ( $n = 1716$ ), представляется таковым: *S. pneumoniae* ( $47,0 \pm 1,2\%$ ), *M. catarrhalis* ( $30,4 \pm 1,11\%$ ), *H. influenzae* ( $17,5 \pm 0,92\%$ ), *S. pyogenes* ( $5,2 \pm 0,54\%$ ).

На следующем этапе анализа была установлена тенденция носительства четырёх основных патогенов в отдельные годы из наблюдаемых четырёх лет. Уровень носительства *S. pneumoniae* имеет тенденцию к росту в 2018 г. ( $11,9 \pm 0,65\%$ ;  $10,1 \pm 0,66\%$ ;  $11,0 \pm 0,84\%$ ;  $13,3 \pm 0,99\%$  соответственно в 2015–2018 гг.). Для *H. influenzae* отмечена противоположная тенденция ( $6,1 \pm 0,48\%$ ;  $4,2 \pm 0,44\%$ ;  $2,5 \pm 0,42\%$ ;  $2,6 \pm 0,47\%$ ). Для *M. catarrhalis* поддерживается один и тот же уровень носительства — от  $7,5 \pm 0,53\%$  в 2015 г. до  $8,4 \pm 0,81\%$  в 2018 г. Наконец, для *S. pyogenes*, несмотря на низкие показатели носительства, отмечен рост выявления в 3,6–5,5 раза в период наблюдения в 2015–2018 гг.:  $0,9 \pm 0,19\%$ ;  $0,6 \pm 0,17\%$ ;  $1,2 \pm 0,29\%$ ;  $3,2 \pm 0,51\%$ .

В последнем случае уровни выделения *S. pyogenes* выросли в 2017–2018 гг. вследствие оптимизации методических приёмов диагностики на этапе первичного посева (достижение роста изолированных колоний на плотных питательных средах, использование эритроцитов барана для выявления характерного  $\beta$ -гемолиза, дополнительное обогащение КА путём введения лошадиной сыворотки).

В основе ситуации с нарастанием показателей носительства *S. pneumoniae* лежат и другие причины. Статистически значимый рост отмечен за 2015–2018 гг. в младшей возрастной группе — 0–6 лет ( $T_{\text{пр}} = 3,9$ ;  $\chi^2_{2015;2018} = 4,8$ ;  $p = 0,03$ ), в средней — 7–12 лет ( $T_{\text{пр}} = 11,7$ ;  $\chi^2_{2015;2018} = 2,1$ ;  $p = 0,08$ ) и подростковой — 13–18 лет ( $T_{\text{пр}} = 19,62$ ;  $p_{\text{Fisher exact}} = 0,3$ ) (табл. 2). Несмотря на выявленный в указанных возрастных группах прирост значений, статистически значимого изменения показателей между 2015 и 2018 г. среди общего числа ежегодно обследуемых лиц не регистрировалось. Аналогично и в группе лиц 19 лет и старше значения остались практически на одном уровне ( $T_{\text{пр}} = 3,19$ ;  $\chi^2_{\text{Йерса},2015;2018} = 0,08$ ;  $p = 0,8$ ).

В предыдущих исследованиях нами была показана статистически достоверная взаимосвязь между эпидемическим процессом внебольничной пневмонии и носительством пневмококков, отображающая проявления скрыто протекающего эпидемического процесса пневмококковой инфекции [17]. Такая же тенденция отмечена и в иностранной литературе [18].

По данным статистической формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», в г. Хабаровске отмечен рост заболеваемости пневмококковой пневмонией в 7,3 раза в 2018 г. ( $12,01$  на 100 тыс. населения) по сравнению с 2017 г. ( $1,64$  на 100 тыс. населения). Вполне вероятно смена ведущих серотипов пневмококка, что

**Таблица 2.** Уровни назофарингеального носительства пневмококка у лиц разных возрастных групп в Хабаровске в 2015–2018 гг. ( $n = 7043$ )  
**Table 2.** Levels of nasopharyngeal pneumococcal carriage in individuals of different age groups in Khabarovsk city in 2015–2018 ( $n = 7043$ )

Год Year	0–6 лет 0–6 years old		7–12 лет 7–12 years old		13–18 лет 13–18 years old		19 лет и старше 19 years and older		Всего Total	
	обсле- довано number of patients	выделен пневмококк <i>Pneumococcus</i>	абс. abs.	%						
		абс. abs.		абс. abs.		абс. abs.		абс. abs.		
2015	1055	254 24,1 ± 1,31	248	18 7,3 ± 1,65	77	1 1,3 ± 1,29	1061	17 1,6 ± 0,39	2441	290 11,9 ± 0,65
2016	825	177 21,5 ± 1,41	210	14 6,7 ± 1,52	81	2 2,5 ± 1,73	940	15 1,6 ± 0,41	2056	208 10,1 ± 0,66
2017	510	125 24,5 ± 1,89	134	13 9,7 ± 2,56	55	1 1,8 ± 1,79	677	12 1,8 ± 0,51	1376	151 11,0 ± 0,84
2018	430	127 29,5 ± 2,19	110	15 13,6 ± 3,27	60	3 5 ± 2,81	570	11 1,9 ± 0,57	1170	156 13,3 ± 0,99
Всего	2820	683 24,2 ± 0,81	702	60 8,6 ± 1,06	273	7 2,6 ± 0,96	3248	55 1,7 ± 0,22	7043	805 11,4 ± 0,37

может обусловить рост заболеваемости и уровней носительства.

Представленные материалы обосновывают необходимость продолжения мониторинга пневмококковой инфекции в г. Хабаровске.

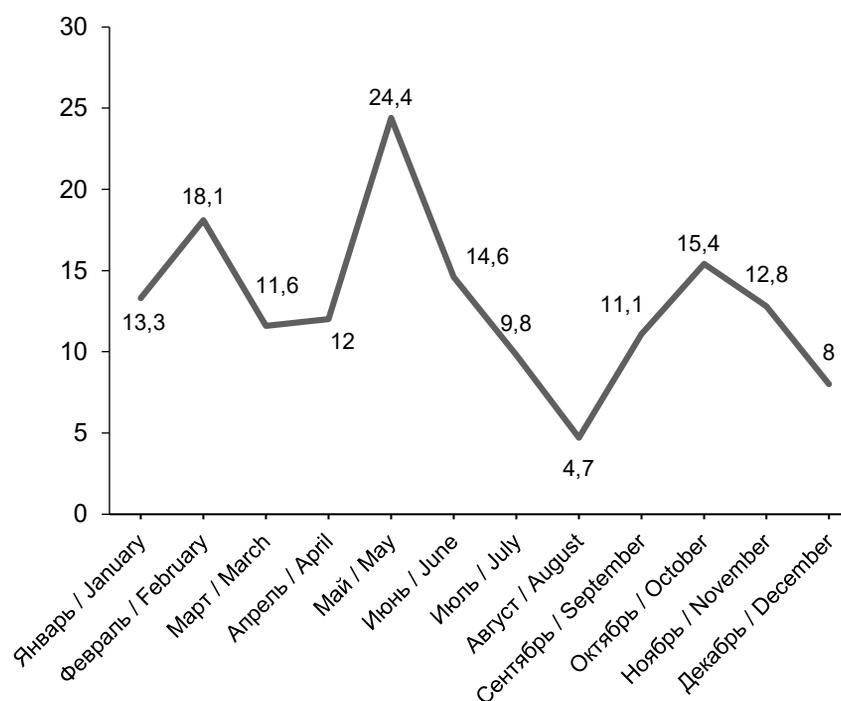
На следующем этапе исследования определена возрастная структура носителей пневмококка. При таком анализе за 100% принято общее число выделителей (источников) пневмококковой инфекции ( $n = 805$ ). Основная масса носителей инфекции ( $84,8 \pm 1,27\%$ ) представлена детьми группы 0–6 лет. Дети 7–12 лет и взрослые лица 19 лет и старше составляют одинаковую долю в числе источников инфекции ( $7,5 \pm 0,93$  и  $6,8 \pm 0,89\%$ ). Совсем небольшую часть в числе носителей инфекции составляют подростки 13–18 лет ( $0,9 \pm 0,33\%$ ).

Ранее выполненное нами исследование по анализу внутрисемейной циркуляции *S. pneumoniae* показало, что в группе часто болеющих детей — выделителей пневмококка — инфицированы 13,4% членов их семей, в основном не получивших специфическую профилактику. Наиболее часто инфицирование регистрируется среди братьев и сестёр (42,9%). Вместе с тем матери и отцы также могут быть носителями пневмококка в очагах (10,7%), а следовательно, источниками инфицирования и распространения инфекции [19]. Для ограничения внутрисемейной циркуляции возбудителя целесообразно держать под контролем и санировать всех членов семей (других детей и взрослых), имеющих тесный контакт с инфицированными детьми.

Анализ помесечной динамики назофарингеального носительства пневмококка, прослеженной при обследовании 1170 лиц в 2018 г., показал, что наиболее высокие показатели носительства регистрировали в феврале, мае и октябре, низкие — в августе (**рисунок**). Зимне-весенние пики носительства совпадают с повышением заболеваемости вирусными инфекциями. Как показано в исследованиях В.К. Таточенко [20], частота выделения и концентрация пневмококков в мокроте назофарингеальных носителей увеличивается во время острых респираторных вирусных инфекций, что считается одним из факторов, повышающих риск развития пневмонии или отита пневмококковой этиологии у больных. Известно также, что нейраминидаза гриппозных вирусов разрушает сиаловые кислоты тканевой организма, способствуя адгезии пневмококков к клеткам эпителия бронхов [5, 10].

Повышение уровня носительства пневмококков осенью (октябрь) может быть связано с действием факторов «перемешивания» детей (основная группа носителей) в период формирования организованных коллективов.

Таким образом, по материалам четырехлетних наблюдений (2015–2018 гг.) и бактериологического обследования 7043 детей трёх возрастных групп и



**Рис. 1.** Помесячная динамика назофарингеального носительства пневмококка (в %), прослеженная при обследовании 1170 лиц в 2018 г. в Хабаровске.

**Fig. 1.** Monthly dynamics of nasopharyngeal pneumococcal carriage observed during the survey of 1,170 individuals in 2018 in Khabarovsk city.

взрослых с рецидивирующими респираторными заболеваниями в Хабаровске установлен значительный уровень назофарингеального носительства бактериальных патогенов (78,2%) с более высокими показателями у детей, чем у взрослых. Оптимизация методических приёмов бактериологической диагностики и эпидемиологического анализа материала позволили установить следующее ранговое положение основных возбудителей, определяющих назофарингеальное носительство патогенов среди обследованных лиц г. Хабаровска: *S. pneumoniae* (47%), *M. catarrhalis* (30,4%), *H. influenzae* (17,5%), *S. pyogenes* (5,2%). Установлены две возрастные группы риска: дети 0–6 лет для *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae* и дети 7–12 лет — для *S. pyogenes*. В течение 4 лет наблюдения отмечена тенденция к росту уровня носительства *M. catarrhalis*, а носительство *H. influenzae* имело тенденцию к снижению. Для *S. pyogenes* при суммарном низком уровне носительства отмечена тенденция к росту в 3,4–5,3 раза. В то же время на фоне специфической противопневмококковой вакцинации выявлена тенденция к росту уровня носительства *S. pneumoniae* в 2018 г. по сравнению с 2015–2017 гг. в трёх возрастных группах детей (младшей, средней и подростковой), что сопровождалось повышением заболеваемости пневмококковой пневмонией в 7,3 раза в 2018 г. по сравнению с 2017 г. Носоглоточное носительство *S. pneumoniae* определяет риск развития пневмонии и других пневмококкассоциированных

заболеваний у детей [4]. Растущий уровень носительства и заболеваемости обосновывают необходимость продолжения мониторинга с определением серотипового состава штаммов и характера антибиотикорезистентности данного возбудителя.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Самсыгина Г.А., Выжлова Е.Н. Ещё раз о проблемах понятия «часто болеющие дети». *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2016; 95(4): 209-15.
2. Рамазанова Б.А., Ералиева Л.Т., Мустафина К.К., Колоскова Е.А. Мультицентровое исследование распространённости назофарингеального носительства *Streptococcus pneumoniae* на отдельных территориях Республики Казахстан до и после начала противопневмококковой вакцинации. *Антибиотики и химиотерапия*. 2017; 5-6(62): 35-42.
3. Борисова О.Ю., Гуров А.В., Гадуа Н.Т., Ефимов Б.А., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С. и др. Микробиоценоз нёбных миндалин у практически здоровых лиц. *Вестник оториноларингологии*. 2018; 83(5): 31-5.  
DOI: <http://doi.org/10.17116/otorino20188305131>
4. Зарипова А.З., Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш. и др. Фенотипические и генотипические свойства *Streptococcus pneumoniae* при бактерионосительстве. *Практическая медицина*. 2018; 16(9): 106-12.
5. Тюркина С.И., Минасян В.С., Савенкова М.С., Китайгородский А.П., Овечкина Н.В., Кац Т.Г. и др. Лечение и профилактика аденоидитов бактериальными лизатами у часто болеющих детей. *Детские инфекции*. 2013; 12(1): 26-30.
6. Чеботарёва Т.А., Мазанкова Л.Н., Хоперскова А.П., Малиновская В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С. Рекуррентные инфекции органов дыхания у детей и программы иммунореабилитации. *Детские инфекции*. 2014; (3): 61-4.

7. Наумкина Е.В., Матущенко Е.В., Калитина И.И., Абросимова О.А., Пядочкина Т.В., Матущенко А.И. Особенности микробиоты дыхательных путей при заболеваниях респираторного тракта. *Бактериология*. 2017; 2(3): 16-20. DOI: <http://doi.org/10.20953/2500-1027-2017-3-16-20>
8. Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В., Симбирцев А.С. Особенности микробиома верхних отделов респираторного тракта у детей с рецидивирующими респираторными заболеваниями. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(4): 341-9. DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-4-341-349>
9. Peterson S.W., Knox N.C., Golding G.R., Tyler S.D., Tyler A.D., Mabon P., et al. A study of the infant nasal microbiome development over the first year of life and relation to their primary adult caregivers using cpn 60 universal target (UT) as a phylogenetic marker. *PLoS One*. 2016; 11(3): e0152493. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0152493>
10. Teo S.M., Mok D., Pham K., Kusel M., Serralha M., Troy N., et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe*. 2015; 17(5): 704-15. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chom.2015.03.008>
11. Dickson R.P., Martinez F.J., Huffnagle G.B. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. *Lancet*. 2014; 384(9944): 691-702. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61136-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61136-3)
12. Методические указания МУ 4.2.2039-05. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. М.; 2001.
13. Богданович Т.М., Стецюк О.У., Кречикова О.И., Боронина Л.Г., Катосова Л.К., Фаустова М.Е. Выделение, идентификация, и определение чувствительности к антибиотикам *Haemophilus influenzae*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2000; 2(2): 93-9.
14. Боронина Л.Г. *Лабораторные методы обнаружения, идентификации и определения резистентности к антибиотикам Haemophilus influenzae*. Екатеринбург; 2006.
15. Гриценко В.А., Мавзютов А.Р., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П. Генетический профиль *Staphylococcus aureus*, выделенных от бактерионосителей и больных с инфекционно-воспалительной патологией. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; (4): 56-62. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-56-62>
16. Шмыленко В.А., Бондаренко А.П., Троценко О.Е., Туркучюков В.Б. Частота обнаружения бактерий *Moraxella catarrhalis* у детей с рекуррентным течением респираторных заболеваний г. Хабаровска в 2016–2017 годах. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2018; (68): 52-6. DOI: [http://doi.org/10.12737/article\\_5b18b82fc43524.59761242](http://doi.org/10.12737/article_5b18b82fc43524.59761242)
17. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Зайцева Т.А., Каравянская Т.Н., Бутакова Л.В. и др. Внутригодная динамика уровней носительства пневмококка и заболеваемости внебольничной пневмонией в г. Хабаровске в 2015 году. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; (62): 16-21. DOI: <http://doi.org/10.12737/23245>
18. Simell B.L., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K.L. Pneumococcal Carriage Group. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Expert Rev Vaccines*. 2012; 11(7): 841-55. DOI: <http://doi.org/10.1586/erv.12.53>
19. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е. Эпидемиология назофарингеального носительства пневмококков в семейных очагах. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018; (3): 54-7. DOI: <http://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.54-57>
20. Таточенко В.К. Пневмококковая инфекция вошла в число управляемых. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010; (3): 102-8.

## REFERENCES

1. Samsygina G.A., Vyzhlova E.N. Once again about the problems of "frequently ill children" notion. *Pediatrya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2016; 95(4): 209-15. (in Russian)
2. Ramazanova B.A., Eralieva L.T., Mustafina K.K., Koloskova E.A. A multicenter study of the prevalence of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in certain territories of the Republic of Kazakhstan before and after the start of anti-pneumococcal vaccination. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2017; 5-6(62): 35-42. (in Russian)
3. Borisova O.Yu., Gurov A.V., Gadua N.T., Efimov B.A., Kafarskaya L.I., Afanas'ev S.S., et al. The microbiocenosis of the palatal tonsils in the practically healthy people. *Vestnik otorinolaringologii*. 2018; 83(5): 31-5. DOI: <http://doi.org/10.17116/otorino20188305131> (in Russian)
4. Zaripova A.Z., Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A., Tyurin Yu.A., Isaeva G.Sh., et al. Phenotypic and genotypic properties of *Streptococcus pneumoniae* in case of bacteria carrying. *Prakticheskaya meditsina*. 2018; 16(9): 106-12. (in Russian)
5. Tyurkina S.I., Minasyan V.S., Savenkova M.S., Kitaygorodskiy A.P., Ovechkina N.V., Kats T.G., et al. Treatment and prevention of adenoiditis with bacterial lysates in sickly children. *Detskie infektsii*. 2013; 12(1): 26-30. (in Russian)
6. Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Khoperskova A.P., Malinovskaya V.V., Kol'tsov V.D., Bragina G.S. Recurrent respiratory infections in children and immunorehabilitation programs. *Detskie infektsii*. 2014; (3): 61-4. (in Russian)
7. Naumkina E.V., Matushenko E.V., Kalitina I.I., Abrosimova O.A., Pyadochkina T.V., Matushenko A.I. Peculiarities of microbiotes of respiratory ways under respiratory tract diseases. *Bakteriologiya*. 2017; 2(3): 16-20. DOI: <http://doi.org/10.20953/2500-1027-2017-3-16-20> (in Russian)
8. Shabaldin A.V., Shabaldina E.V., Simbirtsev A.S. Features of the microbiome of the upper respiratory tract in children with recurrent respiratory diseases. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(4): 341-9. DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-4-341-349> (in Russian)
9. Peterson S.W., Knox N.C., Golding G.R., Tyler S.D., Tyler A.D., Mabon P., et al. A study of the infant nasal microbiome development over the first year of life and relation to their primary adult caregivers using cpn 60 universal target (UT) as a phylogenetic marker. *PLoS One*. 2016; 11(3): e0152493. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0152493>
10. Teo S.M., Mok D., Pham K., Kusel M., Serralha M., Troy N., et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe*. 2015; 17(5): 704-15. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chom.2015.03.008>
11. Dickson R.P., Martinez F.J., Huffnagle G.B. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. *Lancet*. 2014; 384(9944): 691-702. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61136-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61136-3)
12. Guidelines MU 4.2.2039-05. Control methods. Biological and microbiological factors. The technique of collecting and transporting biomaterials in microbiological laboratories. Moscow; 2001. (in Russian)
13. Bogdanovich T.M., Stetsyuk O.U., Krechikova O.I., Boronina L.G., Katosova L.K., Faustova M.E. Isolation, identification, and determination of antibiotic susceptibility to *Haemophilus influenzae*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2000; 2(2): 93-9. (in Russian)

14. Boronina L.G. *Laboratory Methods for the Detection, Identification and Determination of Antibiotic Resistance of Haemophilus influenzae* [Laboratornye metody obnaruzheniya, identifikatsii i opredeleniya rezistentnosti k antibiotikam Haemophilus influenzae]. Ekaterinburg; 2006. (in Russian)
15. Gritsenko V.A., Mavzyutov A.R., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Tyapaeva Ya.V., Belozertseva Yu.P. Genetic profile *Staphylococcus aureus*, isolated from bacterial carriers and patients with infectious inflammatory pathology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; (4): 56-62. DOI: <http://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-56-62> (in Russian)
16. Shmylenko V.A., Bondarenko A.P., Trotsenko O.E., Turkutyukov V.B. The detection frequency of *Moraxella catarrhalis* bacteria in children with a recurrent course of respiratory diseases in Khabarovsk in 2016–2017. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2018; (68): 52-6. DOI: [http://doi.org/10.12737/article\\_5b18b82fc43524.59761242](http://doi.org/10.12737/article_5b18b82fc43524.59761242) (in Russian)
17. Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Zaytseva T.A., Karavyanskaya T.N., Butakova L.V. Annual dynamics of pneumococcal carriage and community-acquired pneumonia incidence in Khabarovsk city in 2015. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2016; (62): 16-21. DOI: <http://doi.org/10.12737/23245> (in Russian)
18. Simell B.I., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K.L. Pneumococcal Carriage Group. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Expert Rev. Vaccines*. 2012; 11(7): 841-55. DOI: <http://doi.org/10.1586/erv.12.53>
19. Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E. Epidemiology of nasopharyngeal carriage of pneumococci in family foci. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; (3): 54-7. DOI: <http://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.54-57> (in Russian)
20. Tatochenko V.K. Pneumococcal infection was included in the number of managed. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2010; (3): 102-8. (in Russian)

### Информация об авторах:

**Шмыленко Влада Александровна** — н.с. лаб. бактериальных инфекций ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, Россия; аспирант каф. эпидемиологии и военной эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», 690002, Владивосток, Россия. E-mail: baklabhniem@gmail.com

**Бондаренко Альбина Павловна** — к.м.н., лаб. бактериальных инфекций ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, Россия.

**Троценко Ольга Евгеньевна** — д.м.н., директор ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, Россия.

**Туркютюков Вячеслав Борисович** — д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии и военной эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», 690002, Владивосток, Россия.

**Базыкина Елена Анатольевна** — м.н.с. лаб. профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, Россия.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

### Information about the authors:

**Vlada A. Shmylenko** — researcher, Laboratory of bacterial infections, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 680610, Khabarovsk, Russia; postgraduate student, Department of epidemiology and military epidemiology, Pacific State Medical University, 690002, Vladivostok, Russia. E-mail: baklabhniem@gmail.com

**Albina P. Bondarenko** — PhD (Med.), Laboratory of bacterial infections, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 680610, Khabarovsk, Russia.

**Olga E. Trotsenko** — D.Sci. (Med.), Director, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 680610, Khabarovsk, Russia.

**Vyacheslav B. Turkutyukov** — D.Sci. (Med.), Prof., Head, Department of epidemiology and military epidemiology, Pacific State Medical University, 690002, Vladivostok, Russia.

**Elena A. Bazykina** — junior researcher, Laboratory for the prevention of viral hepatitis and AIDS, Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 680610, Khabarovsk, Russia.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



## Регуляция микроэкологического состояния нижних отделов женского репродуктивного тракта витаминами

Строкова О.А.<sup>1</sup>, Кремлёва Е.А.<sup>1,2</sup>, Константинова О.Д.<sup>1</sup>, Сгибнев А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», 460000, Оренбург, Россия;

<sup>2</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук, 460000, Оренбург, Россия

**Цель** исследования — изучение изменений микроэкологии влагалища под влиянием препаратов аскорбиновой кислоты,  $\alpha$ -токоферола и ретинола ацетата.

**Материалы и методы.** Определяли количество вагинальных лактобацилл, условно-патогенных микроорганизмов, концентрацию IL1 $\beta$ , raIL1, INF $\gamma$ , TGF $\beta$ 1, лактоферрина и sIgA в вагинальной жидкости женщин с дефицитом аскорбиновой кислоты ( $n = 35$ ), ретинола ацетата ( $n = 35$ ) и  $\alpha$ -токоферола ( $n = 35$ ) до и после интравагинального применения указанных витаминов. Полученные данные сравнивали с показателями здоровых женщин без дефицита витаминов ( $n = 15$ ).

**Результаты.** Выявлена связь дефицита  $\alpha$ -токоферола, ретинола ацетата и аскорбиновой кислоты с дефицитом лактофлоры, высокой частотой бактериального вагиноза и кандидоза, изменениями параметров мукозального иммунитета провоспалительной направленности. Доказано нормализующее влияние всех исследуемых витаминов на состояние лактофлоры влагалища, выраженность которого уменьшалась в ряду  $\alpha$ -токоферол  $\rightarrow$  ретинола ацетат  $\rightarrow$  аскорбиновая кислота. Витамин А вызывал повышение, а витамины С и Е — снижение численности условно-патогенных микроорганизмов, при этом эффект витамина С был выраженным, но кратковременным, а витамина Е — менее выраженным, но длительным. Применение витаминов разнонаправленно влияло на состояние мукозального иммунитета: аскорбиновая кислота способствовала усилению изменений провоспалительной направленности,  $\alpha$ -токоферол и ретинола ацетат — напротив, вызывали изменения противовоспалительной направленности.

**Заключение.** Данные о влиянии на микроэкологическое состояние вагинального биотопа препаратов аскорбиновой кислоты,  $\alpha$ -токоферола, ретинола ацетата позволяют рассматривать эти витамины в качестве регуляторных факторов как для клеток хозяина, так и для микросимбионтов.

**Ключевые слова:** антиоксиданты; аскорбиновая кислота;  $\alpha$ -токоферол; влагалище; витамины; лактобациллы; ретинола ацетат; цитокины.

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

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

**Для цитирования:** Строкова О.А., Кремлёва Е.А., Константинова О.Д., Сгибнев А.В. Регуляция микроэкологического состояния нижних отделов женского репродуктивного тракта витаминами. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 251–257.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-7>

Поступила 27.07.2019  
Принята в печать 03.03.2020

## Regulation of the microecological state of the lower parts of the female reproductive tract with vitamins

Olga A. Strokova<sup>1</sup>, Elena A. Kremleva<sup>1,2</sup>, Olga D. Konstantinova<sup>1</sup>, Andrey V. Sgibnev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Orenburg State Medical University, 460000, Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 460000, Orenburg, Russia

**Aim.** To study the changes in the microecology of the vagina under the influence of ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, and retinol acetate.

**Materials and methods.** The number of vaginal lactobacilli and opportunistic bacteria, the concentrations of IL1 $\beta$ , raIL1, INF $\gamma$ , TGF $\beta$ 1, lactoferrin and sIgA in vaginal fluids of women with deficiency of ascorbic acid ( $n = 35$ ) or retinol acetate ( $n = 35$ ) or  $\alpha$ -tocopherol ( $n = 35$ ) were assessed before and after intravaginal application of these vitamins. The obtained data were compared with those of healthy women without vitamin deficiency ( $n = 15$ ).

**Results.** An association between deficiency of  $\alpha$ -tocopherol, retinol acetate and ascorbic acid with a deficiency of lactoflora, a high frequency of bacterial vaginosis and candidiasis, and proinflammatory changes of the parameters of mucosal immunity has been found. A normalizing effect of all vitamins on the lactoflora of the vagina was identified. The severity of this effect decreased in the following order:  $\alpha$ -tocopherol  $\rightarrow$  retinol acetate  $\rightarrow$  ascorbic acid. Retinol acetate caused the increase, while ascorbate and tocopherol caused the reduction in the number of opportunistic microorganisms. The effect of ascorbate was pronounced, but short-term, while the effect of tocopherol was less pronounced, but long-lasting. The use of vitamins affected the condition of mucosal immunity in different directions: ascorbic acid caused an increase in pro-inflammatory changes; on the contrary,  $\alpha$ -tocopherol and retinol acetate caused anti-inflammatory changes.

**Conclusion.** Our data on the effects of  $\alpha$ -tocopherol, retinol acetate, and ascorbic acid on the microecological state of the vaginal biotope suggest that these vitamins may be considered as regulatory factors for both host cells and microsymbionts.

**Keywords:** antioxidants; ascorbic acid; cytokines; lactobacilli; retinol acetate;  $\alpha$ -tocopherol; vagina; vitamins.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Strokova O.A., Kremleva E.A., Konstantinova O.D., Sgibnev A.V. Regulation of the microecological state of the lower parts of the female reproductive tract with vitamins. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 251–257. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-7>

Received 27 July 2019

Accepted 3 March 2020

## Введение

Вагинальный биоценоз является эволюционно сложившейся симбиотической системой [1], основанной на взаимодействии двух основных компонентов: клеток макроорганизма и микрофлоры, и находится под постоянным воздействием различных регуляторных факторов. По-видимому, залогом целостности этого биоценоза является возможность согласованного ответа на один и тот же регуляторный фактор клеток и хозяина, и микросимбионтов. Примером служит реакция вагинального биоценоза на изменение уровня провоспалительных цитокинов, высокие уровни которых одновременно с запуском воспалительной реакции тормозят рост популяции лактобацилл, обеспечивая их выживаемость [2]. Половые стероидные гормоны также способны регулировать оба компонента вагинального биоценоза [3]. Под их влиянием изменяются функциональное состояние клеток хозяина (иммунных и эпителиальных) и биологические свойства (рост и персистентные характеристики) микросимбионтов.

Витамины — важный регуляторный фактор роста, дифференцировки и функционирования клеток макроорганизма [4], вероятно, тоже должны оказывать влияние на все компоненты вагинального биоценоза, тем более что существуют данные, полученные в условиях *in vitro*, о влиянии некоторых витаминов на рост микроорганизмов [5]. С другой стороны, особенностью вагинального биоценоза является преобладание в нем лактобацилл, продуцирующих пероксид водорода [1, 6], избыток которого угрожает как выживаемости самих лактобацилл, так и целостности клеток ма-

кроорганизма. Это делает актуальным вопрос о влиянии на состояние вагинального биоценоза витаминов антиоксидантного комплекса, способных предотвращать повреждающее действие активных форм кислорода.

**Цель** данного исследования — изучение изменений микрoэкологического состояния влагалища под влиянием препаратов аскорбиновой кислоты (АК),  $\alpha$ -токоферола и ретинола ацетата (РА).

Для достижения этой цели мы изучили особенности микрoэкологического состояния влагалища при дефиците этих витаминов и динамику состояния микробиоценоза и мукозального иммунитета нижних отделов женского репродуктивного тракта при интравагинальном возмещении дефицита этих витаминов.

## Материалы и методы

Открытое нерандомизированное наблюдательное исследование было одобрено Экспертной комиссией ФГБОУ ВО «ОрГМУ» и выполнялось в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской декларации.

В исследовании участвовали 120 женщин фертильного возраста, из которых были сформированы три группы с дефицитом витаминов А ( $n = 35$ ), С ( $n = 35$ ) и Е ( $n = 35$ ) и контрольная группа с нормальным содержанием витаминов ( $n = 15$ ). Концентрации РА и  $\alpha$ -токоферола определяли в сыворотке крови спектрофлуориметрически [7, 8] с использованием «Флюорат-02-АБЛФ», концентрацию АК определяли в моче методом титрования 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия [9].

Критериями невключения служили:

- наличие соматической патологии, в том числе суб- или декомпенсированной;
- наличие инфекций, передаваемых половым путем;
- беременность и лактация;
- нарушение менструального цикла;
- приверженность к интравагинальным гигиеническим практикам;
- курение;
- применение гормональных, противомикробных или витаминно-минеральных препаратов в течение 6 мес, предшествующих включению в исследование.

Все пациентки исследуемых групп начиная с 7–8-го дня менструального цикла согласно выявленному дефициту витаминов в течение 7 дней 1 раз в сутки интравагинально получали препараты:

- «Вагинорм С» («Artisan Pharma») — вагинальные таблетки, содержащие аскорбиновую кислоту 250 мг, по 1 таблетке;
- «Альфа-токоферол ацетат в масле 50%, капсулы по 100 мг» (ООО «Люми»), по 1 капсуле;
- «Ретинола ацетат в масле, капсулы 33000 МЕ» (ООО «Люми»), по 1 капсуле.

Пациентки контрольной группы препаратов витаминов не получали.

Клиническое, микроскопическое, бактериологическое и иммуноферментное исследование проводили до начала терапии, на 1-е и 8-е сутки после терапии.

Выраженность клинических проявлений оценивали при осмотре половых путей в зеркалах. Кислотность среды отделяемого влагалища изучали с помощью тест-полосок с ограниченным диапазоном значений pH.

Состояние микрофлоры влагалища оценивали с использованием микроскопических критериев Hay-Ison. Значение лейкоцитарно-эпителиального индекса определяли как соотношение числа лейкоцитов к числу клеток эпителия, учтенных в 10–15 полях зрения.

Общее количество условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и лактобацилл определяли после посева вагинальной жидкости на среды СКС и MRS соответственно и культивирования (атмосфера с 5% содержанием CO<sub>2</sub>, 37°C, 48 ч). Таксономическую принадлежность бактерий определяли на основе их морфологии, культуральных и биохимических характеристик [10].

Для получения вагинального лаважа омывали стенки влагалища 2 мл стерильного 0,15 М раствора NaCl. В лаважи добавляли фенолметилсульфонилфлюорид (конечная концентрация 5 мкМ/мл) для ингибирования протеаз, затем пробы центрифугировали (3000g, 15 мин), собирали надосадочную

жидкость и хранили ее при –20°C не более 1 мес. Содержание лактоферрина и секреторного иммуноглобулина А (sIgA), цитокинов IL1β, gaIL1, INFγ и TGFβ1 определяли с помощью иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя с использованием наборов ООО «Цитокин», «Cloud-Clone Corp.» и «BD Biosciences».

Данные исследования представлены в виде средних значений показателей и стандартных отклонений. Достоверность различий в показателях между группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни, уровень значимости *p* принимали равным 0,05.

## Результаты

Содержание витаминов А и Е в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп характеризовалось более чем двукратным снижением их концентрации по сравнению с нормой и составило соответственно для РА 0,1 ± 0,03 мг/мл (норма >0,3 мг/мл), α-токоферола — 4,0 ± 1,15 мкг/мл (норма >7 мкг/мл). Экскреция АК с мочой у пациенток с дефицитом витамина С также была значительно снижена: 0,19 ± 0,03 мг/ч при норме >0,7 мг/ч.

Сниженное содержание в организме женщин витаминов А, Е и С сопровождалось высокой частотой (71,4–80,0%) встречаемости дефицита вагинальных лактобацилл. Особенностью гиповитаминоза РА и АК являлась высокая частота бактериального вагиноза — у каждой 5-й пациентки. Напротив, при дефиците α-токоферола случаев бактериального вагиноза не зафиксировано, зато в 25,7% случаев были выделены грибы рода *Candida* в обсемененности выше 3 lg КОЕ/мл.

Выраженность дисбиотических изменений в вагинальном биотопе прямо зависела от тяжести гиповитаминоза. Например, у пациенток с выраженным дефицитом витамина Е вагинальный дисбиоз был зафиксирован в 80% случаев, у лиц с умеренным гиповитаминозом — в 28,6%, тогда как в контрольной группе — только в 13,3%.

На следующем этапе нашего исследования мы оценивали особенности мукозального иммунитета влагалища у женщин, страдающих дефицитом витаминов. Учитывая, что видовой спектр микроорганизмов может оказывать влияние на напряженность мукозального иммунитета [11], мы считали необходимым оценивать состояние параметров мукозального иммунитета отдельно в подгруппах с дисбиозом и нормоценозом.

Общей закономерностью изменения мукозального иммунитета для всех видов гиповитаминоза в подгруппах с нормоценозом являлись изменения провоспалительной направленности. Дефицит всех витаминов сопровождался уменьшением концентрации gaIL1 и соотношения gaIL1/IL1β (табл. 1), в дополнение к этому дефицит АК сопровождается

**Таблица 1.** Параметры мукозального иммунитета влагалища в исследуемых группах ( $M \pm m$ )

**Table 1.** Parameters of mucosal immunity of the vagina in the studied groups ( $M \pm m$ )

Показатель Parameter	Контроль (n = 15) Control (n = 15)	Дефицит РА (n = 35) Retinol acetate deficiency (n = 35)		Дефицит АК (n = 35) Ascorbic acid deficiency (n = 35)		Дефицит α-токоферола (n = 35) α-Tocopherol deficiency (n = 35)	
		нормоценоз normal flora	дисбиоз dysbiosis	нормоценоз normal flora	дисбиоз dysbiosis	нормоценоз normal flora	дисбиоз dysbiosis
IL1β, пг/мл IL1β, pg/ml	233,4 ± 65,4	226,6 ± 44,3	615,0 ± 185,0**	284,0 ± 1,2	435,0 ± 44,4**	271,0 ± 3,1	668,0 ± 193,0**
raIL1, пг/мл raIL1, pg/ml	2563,2 ± 199,6	1371,6 ± 689,5*	1537,0 ± 604,3*	1949,0 ± 111,6*	3162,6 ± 853,7*	1246,6 ± 86,9*	1469,6 ± 635,3*
raIL1/IL1β	11,0 ± 0,7	6,0 ± 0,4*	2,4 ± 0,2**	6,9 ± 0,4*	7,9 ± 0,5*	4,6 ± 0,3*	2,2 ± 0,2**
TGFβ1, нг/мл TGFβ1, ng/ml	8,68 ± 0,6	8,2 ± 1,7	10,7 ± 3,0	5,0 ± 0,4*	5,0 ± 0,3*	9,51 ± 1,9	11,27 ± 1,8
IL1β/TGFβ1	26,9 ± 1,9	27,6 ± 3,7	57,4 ± 6,3**	56,8 ± 4,1*	87 ± 7,2**	28,5 ± 2,9	59,9 ± 4,3**
INFγ, пг/мл INFγ, pg/ml	19,2 ± 0,6	36,6 ± 4,2*	51,0 ± 5,6**	22,0 ± 0,8	41,6 ± 2,4**	38,9 ± 4,3*	54,2 ± 5,8**
Лактоферрин, нг/мл Lactoferrin, ng/ml	1087,4 ± 132,2	236,6 ± 137,1*	2381,5 ± 212,0**	977,0 ± 110,0	1878,3 ± 585,9**	321,2 ± 95,2*	1781,5 ± 131,2**
slgA, мкг/мл slgA, μg/ml	4,5 ± 0,4	4,6 ± 2,7	6,5 ± 0,2*	3,5 ± 0,4*	5,3 ± 1,9**	3,8 ± 0,5	7,1 ± 0,3**

Примечание.  $p \leq 0,05$  по сравнению \*с контролем, \*с нормоценозом.

Note.  $p \leq 0,05$  compared to \*control, \*normal flora.

снижением уровня TGFβ1, т.е. увеличением коэффициента IL1β/TGFβ1, что в обоих случаях может свидетельствовать о сохранении провоспалительного потенциала IL1β. Одновременно с этим отмечено повышение уровня INFγ, наблюдаемое при недостатке жирорастворимых витаминов А и Е.

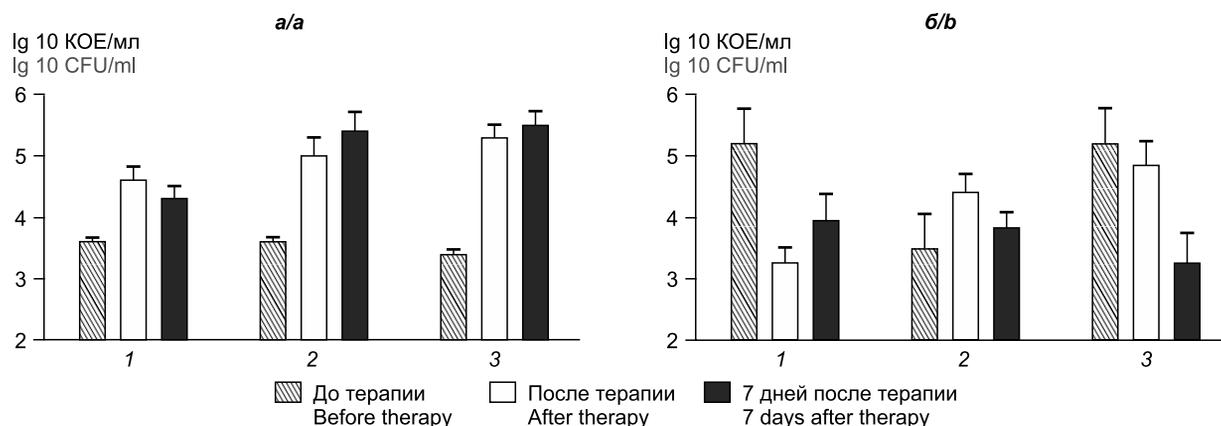
Закономерности изменения мукозального иммунитета для всех видов гиповитаминоза в подгруппах с дисбиозом в большинстве случаев имели тот же характер, но были более выражены (табл. 1).

Таким образом, мы выявили связь дефицита α-токоферола, РА и АК с нарушениями микробиологического состояния вагинального биотопа. Для подтверждения этой связи нами был исследован эффект интравагинального применения витаминных препаратов, согласно выявленному дефициту, на

состояние микробиоценоза и мукозального иммунитета нижних отделов женского репродуктивного тракта. На момент завершения терапии (8-е сутки исследования) подтверждено нормализующее влияние всех исследуемых витаминов на состояние лактофлоры влагалища (**рисунок**).

Так, мы наблюдали достоверное увеличение количества лактобацилл в результате терапии α-токоферолом у 80% пациенток, РА — у 74,3% и АК — у 51,4%. Численность лактобацилл под влиянием α-токоферола возросла в 80 раз, РА — в 25 и АК — в 10.

На 8-е сутки после завершения терапии в группах пациенток, получавших препараты витаминов А и Е, прирост численности лактобацилл продолжался, тогда как в случае с АК мы наблюдали снижение численности лактобацилл (**рисунок, а**).



Влияние применения АК (1), РА (2) и α-токоферола (3) на численность лактобацилл (а) и УПМ (б).

The effect of the use of ascorbic acid (1), retinol acetate (2) and α-tocopherol (3) on the number of lactobacilli (a) and opportunistic microorganisms (b).

Таким образом, выраженность влияния интравагинального применения витаминных препаратов на лактофлору уменьшалась в ряду  $\alpha$ -токоферол  $\rightarrow$  РА  $\rightarrow$  АК.

В отношении влияния витаминов на численность УПМ единой тенденции не наблюдалось. Так, интравагинальное применение АК к моменту завершения терапии в 80% случаев уменьшало численность УПМ в среднем в 31 раз, однако через 1 нед после завершения терапии численность УПМ вновь возрастала до исходного уровня (рисунок, б).

После применения витамина Е происходило менее выраженное снижение показателя микробной обсемененности УПМ, однако оно продолжалось и через неделю после завершения терапии.

Использование РА приводило к противоположному эффекту: численность УПМ по сравнению с исходной к концу терапии возрастала в 10 раз, через 1 нед после завершения терапии — в 25 раз (рисунок, б).

На фоне увеличения численности УПМ при применении РА мы наблюдали возрастание в 3 раза лейкоцитарно-эпителиального индекса, тогда как на фоне применения АК и токоферола ацетата он значимо не менялся.

Интравагинальное применение витаминных препаратов оказывало разнонаправленное влияние на состояние мукозального иммунитета (табл. 2). Так, применение АК способствовало усилению

изменений провоспалительной направленности (уменьшение отношения  $\text{raIL1/IL1}\beta$ , увеличение коэффициента  $\text{IL1}\beta/\text{TGF}\beta 1$  и концентрации  $\text{INF}\gamma$ ) на фоне снижения уровня лактоферрина и  $\text{sIgA}$  (табл. 2). Применение  $\alpha$ -токоферола и РА, напротив, вызывало изменения параметров мукозального иммунитета противовоспалительной направленности: увеличение отношения  $\text{raIL1/IL1}\beta$  и концентрации  $\text{TGF}\beta 1$ , уменьшение коэффициента  $\text{IL1}\beta/\text{TGF}\beta 1$  и концентрации  $\text{INF}\gamma$  и  $\text{IL1}\beta$  (табл. 2). Несмотря на общие тенденции, применение  $\alpha$ -токоферола позволило добиться значений показателей параметров мукозального иммунитета, значительно более близких к показателям группы контроля, чем применение РА (табл. 2).

### Обсуждение

Несмотря на то что  $\alpha$ -токоферол, РА и АК по физико-химическим характеристикам относятся к группе антиоксидантов [12] и при их дефиците наблюдаются схожие изменения, их влияние на вагинальный биоценоз имеет свои индивидуальные, зачастую разнонаправленные особенности. Так, наиболее выраженным эффектом в период применения обладала АК: она стимулировала прирост численности лактобацилл, выраженно угнетала УПМ, но при этом вызывала изменения параметров мукозального иммунитета провоспалительной направленности. Стимуляция лактобацилл и

**Таблица 2.** Показатели мукозального иммунитета нижних отделов репродуктивного тракта женщин до и после применения препаратов РА, АК и  $\alpha$ -токоферола ( $M \pm m$ )

**Table 2.** Parameters of mucosal immunity of the vagina of women before and after treatment with retinol acetate, ascorbic acid, and  $\alpha$ -tocopherol ( $M \pm m$ )

Показатель Parameter	Контроль ( $n = 15$ ) Control ( $n = 15$ )	РА ( $n = 35$ ) Retinol acetate ( $n = 35$ )		АК ( $n = 35$ ) Ascorbic acid ( $n = 35$ )		$\alpha$ -Токоферол ( $n = 35$ ) $\alpha$ -Tocopherol ( $n = 35$ )	
		до лечения before treatment	после лечения after treatment	до лечения before treatment	после лечения after treatment	до лечения before treatment	после лечения after treatment
$\text{IL1}\beta$ , пг/мл $\text{IL1}\beta$ , pg/ml	233,4 $\pm$ 65,4	337,5 $\pm$ 127,8	168,1 $\pm$ 32,9**	374,6 $\pm$ 49,5	401,0 $\pm$ 91,1*	468,5 $\pm$ 81,1	278,1 $\pm$ 41,5*
$\text{raIL1}$ , пг/мл $\text{raIL1}$ , pg/ml	2563,2 $\pm$ 199,6	1418,8 $\pm$ 650,9	832,0 $\pm$ 207,0**	2677,2 $\pm$ 443,5	754,8 $\pm$ 338,3**	1432,2 $\pm$ 437,8	1198,9 $\pm$ 321,3*
$\text{raIL1/IL1}\beta$	11,0 $\pm$ 0,7	3,7 $\pm$ 0,19	5,4 $\pm$ 0,2**	8,4 $\pm$ 0,4	2,1 $\pm$ 0,3**	3,1 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,4*
$\text{TGF}\beta 1$ , нг/мл $\text{TGF}\beta 1$ , ng/ml	8,68 $\pm$ 0,6	8,7 $\pm$ 2,13	15,0 $\pm$ 9,1**	5,0 $\pm$ 0,4	6,4 $\pm$ 1,1*	6,7 $\pm$ 1,8	9,8 $\pm$ 2,4*
$\text{IL1}\beta/\text{TGF}\beta 1$	26,9 $\pm$ 1,9	82,9 $\pm$ 6,2	26,6 $\pm$ 1,9*	75,5 $\pm$ 5,3	82,6 $\pm$ 6,8*	82,9 $\pm$ 7,4	26,6 $\pm$ 2,4*
$\text{INF}\gamma$ , пг/мл $\text{INF}\gamma$ , pg/ml	19,2 $\pm$ 0,6	40,7 $\pm$ 5,3	27,5 $\pm$ 5,5**	33,8 $\pm$ 4,7	60,0 $\pm$ 5,2**	48,9 $\pm$ 6,1	21,3 $\pm$ 4,8*
Лактоферрин, нг/мл Lactoferrin, ng/ml	1087,4 $\pm$ 132,2	849,4 $\pm$ 443,0	932,5 $\pm$ 272,0	1517,8 $\pm$ 538,0	755,6 $\pm$ 259,0*	786,1 $\pm$ 147,3	998,8 $\pm$ 206,6
$\text{sIgA}$ , мкг/мл $\text{sIgA}$ , $\mu\text{g/ml}$	4,5 $\pm$ 0,4	5,1 $\pm$ 2,3	6,5 $\pm$ 3,1*	4,6 $\pm$ 1,9	3,8 $\pm$ 1,2**	6,3 $\pm$ 1,9	4,2 $\pm$ 1,7*

Примечание.  $p \leq 0,05$  по сравнению \*с контролем, \*\*с показателями до терапии.  
Note.  $p \leq 0,05$  compared to \*control, \*\*indicators before therapy.

угнетение УПМ АК связаны не только с эффектом снижения pH вагинального содержимого, который уже используется в клинической практике [13]. Ранее было показано, что АК способна усиливать продукцию пероксида водорода лактобациллами [14], что является дополнительным фактором угнетения УПМ. Одновременно с этим за счет своих антиоксидантных свойств АК способна защитить лактобациллы от увеличившегося количества продуцируемых ими активных форм кислорода. Непродолжительность положительного эффекта АК в отношении микробиоценоза, по-видимому, связана с ее способностью усиливать провоспалительные компоненты мукозального иммунитета [15]. Высокий уровень провоспалительных цитокинов оказывает стимулирующее действие на рост УПМ и подавляющее — на вагинальные лактобациллы [2].

$\alpha$ -Токоферол оказывал менее выраженное, но зато более продолжительное влияние на вагинальный биоценоз: умеренно стимулировал прирост численности лактобацилл и снижал численность УПМ, при этом вызывая изменения параметров мукозального иммунитета противовоспалительной направленности. Менее выраженное, чем у АК, влияние на микрофлору связано с отсутствием возможности изменять pH и обусловлено, вероятно, только его антиоксидантной активностью. Длительный эффект  $\alpha$ -токоферола, по-видимому, обусловлен его противовоспалительным эффектом. Такие условия способствуют увеличению численности лактобацилл и снижению — УПМ.

РА оказывал неоднозначное влияние на вагинальный биоценоз: в период применения стимулировал прирост численности и лактобацилл, и УПМ, при этом вызывая изменения параметров мукозального иммунитета противовоспалительной направленности. Мы полагаем, что прирост численности лактобацилл и УПМ связан с прямым влиянием РА на созревание вагинального эпителия [16], что увеличивало доступность питательных веществ для всех типов микросимбионтов. Наблюдаемое через 1 нед после терапии снижение численности УПМ связано, на наш взгляд, с антагонистической активностью восстановившейся популяции лактобацилл.

Таким образом, полученные в этом исследовании данные о влиянии на микроэкологическое состояние влагалища АК, РА и  $\alpha$ -токоферола позволяют рассматривать эти витамины в качестве регуляторных факторов как для клеток хозяина, так и для микросимбионтов.

### Выводы

Выявлена связь дефицита  $\alpha$ -токоферола, РА и АК с дефицитом лактофлоры, высокой частотой бактериального вагиноза и кандидоза, а также изменениями параметров мукозального иммунитета провоспалительной направленности.

Применение препаратов витаминов А, Е и С интравагинально у женщин с их дефицитом оказывало нормализующее влияние на состояние лактофлоры влагалища, выраженность которого уменьшалась в ряду  $\alpha$ -токоферол  $\rightarrow$  РА  $\rightarrow$  АК.

Влияние на УПМ имело особенности: витамин А вызывал повышение, а витамины С и Е — снижение численности УПМ, при этом эффект витамина С был выраженным, но кратковременным, а витамина Е — менее выраженным, но длительным. Применение витаминов разнонаправленно влияло на состояние мукозального иммунитета: АК способствовала усилению изменений провоспалительной направленности,  $\alpha$ -токоферол и РА — напротив, вызывали изменения противовоспалительной направленности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Vaneechoutte M. The human vaginal microbial community. *Res. Microbiol.* 2017; 168(9-10): 811-25.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.08.001>
2. Kremleva E.A., Sgibnev A.V. Proinflammatory cytokines as regulators of vaginal microbiota. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016; 162(1): 75-8.  
DOI: <http://doi.org/10.1007/s10517-016-3549-1>
3. Wessels J.M., Felker A.M., Dupont H.A., Kaushic C. The relationship between sex hormones, the vaginal microbiome and immunity in HIV-1 susceptibility in women. *Dis. Model. Mech.* 2018; 11(9).  
DOI: <http://doi.org/10.1242/dmm.035147>
4. Mora J.R., Iwata M., von Andrian U.H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(9): 685-98.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/nri2378>
5. Yao C., Chou J., Wang T., Zhao H., Zhang B. Pantothenic acid, vitamin C, and biotin play important roles in the growth of *Lactobacillus helveticus*. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1194.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01194>
6. Sgibnev A.V., Kremleva E.A. Vaginal protection by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing lactobacilli. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(10): e22913.  
DOI: <http://doi.org/10.5812/jjm.22913>
7. Craft N.E. Innovative approaches to vitamin A assessment. *J. Nutr.* 2001; 131(5): 1626S-30S.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/jn/131.5.1626S>
8. Demirkaya-Miloglu F., Kadioglu Y., Senol O., Yaman M.E. Spectrofluorimetric determination of  $\alpha$ -tocopherol in capsules and human plasma. *Indian J. Pharm. Sci.* 2013; 75(5): 563-8.
9. Santos D.A., Lima K.P., Março P.H., Valderrama P. Vitamin C determination by ultraviolet spectroscopy and multiproduct calibration. *J. Braz. Chem. Soc.* 2016; 27(10): 1912-7.
10. Garrity G., Staley J.T., Boone D.R., Brenner D.J., Krieg N.R., Vos P.D., et al. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Volume Two: the Proteobacteria*. Berlin: Springer Science & Business Media; 2006.
11. Rose W.A., McGowin C.L., Spagnuolo R.A., Eaves-Pyles T.D., Popov V.L., Pyles R.B. Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures. *PLoS One.* 2012; 7(3): e32728.  
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032728>
12. Liu C., Russell R.M., Wang X.D. Alpha-tocopherol and ascorbic acid decrease the production of beta-apo-carotenals and increase the formation of retinoids from beta-carotene in the lung tissues of cigarette smoke-exposed ferrets *in vitro*.

- J. Nutr.* 2004; 134(2): 426-30.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/jn/134.2.426>
13. Welch C., Baker K. The effectiveness of intravaginal vitamin C versus placebo for the treatment of bacterial vaginosis: a systematic review protocol. *JBI Database System Rev. Implement. Rep.* 2015; 13(6): 96-113.  
DOI: <http://doi.org/10.11124/jbisrir-2015-2138>
  14. Бухарин О.В., Сгибнев А.В., Черкасов С.В. Роль про- и антиоксидантов микроорганизмов в регуляции механизмов гомеостаза симбиоза (на модели вагинального биотопа). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2014; (3): 9-15.
  15. Carr A., Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients.* 2017; 9(11): 1211-36.  
DOI: <http://doi.org/10.3390/nu9111211>
  16. Clagett-Dame M., Knutson D. Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients.* 2011; 3(4): 385-428.  
DOI: <http://doi.org/10.3390/nu3040385>

## REFERENCES

1. Vaneechoutte M. The human vaginal microbial community. *Res. Microbiol.* 2017; 168(9-10): 811-25.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.08.001>
2. Kremleva E.A., Sgibnev A.V. Proinflammatory cytokines as regulators of vaginal microbiota. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016; 162(1): 75-8.  
DOI: <http://doi.org/10.1007/s10517-016-3549-1>
3. Wessels J.M., Felker A.M., Dupont H.A., Kaushic C. The relationship between sex hormones, the vaginal microbiome and immunity in HIV-1 susceptibility in women. *Dis. Model. Mech.* 2018; 11(9).  
DOI: <http://doi.org/10.1242/dmm.035147>
4. Mora J.R., Iwata M., von Andrian U.H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(9): 685-98.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/nri2378>
5. Yao C., Chou J., Wang T., Zhao H., Zhang B. Pantothenic acid, vitamin C, and biotin play important roles in the growth of *Lactobacillus helveticus*. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1194.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01194>
6. Sgibnev A.V., Kremleva E.A. Vaginal protection by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing lactobacilli. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(10): e22913.  
DOI: <http://doi.org/10.5812/jjm.22913>
7. Craft N.E. Innovative approaches to vitamin A assessment. *J. Nutr.* 2001; 131(5): 1626S-30S.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/jn/131.5.1626S>
8. Demirkaya-Miloglu F., Kadioglu Y., Senol O., Yaman M.E. Spectrofluorimetric determination of  $\alpha$ -tocopherol in capsules and human plasma. *Indian J. Pharm. Sci.* 2013; 75(5): 563-8.
9. Santos D.A., Lima K.P., Março P.H., Valderrama P. Vitamin C determination by ultraviolet spectroscopy and multiproduct calibration. *J. Braz. Chem. Soc.* 2016; 27(10): 1912-7.
10. Garrity G., Staley J.T., Boone D.R., Brenner D.J., Krieg N.R., Vos P.D., et al. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Volume Two: the Proteobacteria.* Berlin: Springer Science & Business Media; 2006.
11. Rose W.A., McGowin C.L., Spagnuolo R.A., Eaves-Pyles T.D., Popov V.L., Pyles R.B. Commensal bacteria modulate innate immune responses of vaginal epithelial cell multilayer cultures. *PLoS One.* 2012; 7(3): e32728.  
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0032728>
12. Liu C., Russell R.M., Wang X.D. Alpha-tocopherol and ascorbic acid decrease the production of beta-apo-carotenals and increase the formation of retinoids from beta-carotene in the lung tissues of cigarette smoke-exposed ferrets in vitro. *J. Nutr.* 2004; 134(2): 426-30.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/jn/134.2.426>
13. Welch C., Baker K. The effectiveness of intravaginal vitamin C versus placebo for the treatment of bacterial vaginosis: a systematic review protocol. *JBI Database System Rev. Implement. Rep.* 2015; 13(6): 96-113.  
DOI: <http://doi.org/10.11124/jbisrir-2015-2138>
14. Bukharin O.V., Sgibnev A.V., Cherkasov S.V. The role of pro- and antioxidants of microorganisms in regulation of symbiosis homeostasis mechanisms (on the model of human vaginal biotope). *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2014; (3): 9-15. (in Russian)
15. Carr A., Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients.* 2017; 9(11): 1211-36. DOI: <http://doi.org/10.3390/nu9111211>
16. Clagett-Dame M., Knutson D. Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients.* 2011; 3(4): 385-428.  
DOI: <http://doi.org/10.3390/nu3040385>

**Информация об авторах:**

**Строкова Ольга Александровна** — ассистент каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», 460000, Оренбург, Россия.

ORCID ID: 0000-0003-2088-1426. E-mail: oastrokova@yandex.ru

**Кремлёва Елена Александровна** — д.м.н., в.н.с. лаб. по изучению механизмов формирования микробиоценозов человека ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» УрО РАН, 460000, Оренбург, Россия; проф. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», 460000, Оренбург, Россия.

ORCID ID: 0000-0003-1916-784X. E-mail: kremlena1@mail.ru

**Константинова Ольга Дмитриевна** — д.м.н., проф., зав. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», 460000, Оренбург, Россия.

ORCID ID: 0000-0003-0369-0281. E-mail: const55@mail.ru

**Сгибнев Андрей Викторович** — д.б.н., зав. лаб. по изучению механизмов формирования микробиоценозов человека ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» УрО РАН, 460000, Оренбург, Россия; проф. каф. химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», 460000, Оренбург, Россия.

ORCID ID: 0000-0003-1866-1678. E-mail: sgibnew72@gmail.com

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Olga A. Strokova** — Assistant, Department of obstetrics and gynecology, Orenburg State Medical University, 460000, Orenburg, Russia.

ORCID ID: 0000-0003-2088-1426. E-mail: oastrokova@yandex.ru

**Elena A. Kremleva** — D. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory for the study of the mechanisms of formation microbiocenoses of humans, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, 460000, Orenburg, Russia; Prof., Department of obstetrics and gynecology, Orenburg State Medical University, 460000, Orenburg, Russia.

ORCID ID: 0000-0003-1916-784X. E-mail: kremlena1@mail.ru

**Olga D. Konstantinova** — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of obstetrics and gynecology, Orenburg State Medical University, 460000, Orenburg, Russia.

ORCID ID: 0000-0003-0369-0281. E-mail: const55@mail.ru

**Andrey V. Sgibnev** — D. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Head, Laboratory for the study of the mechanisms of formation microbiocenoses of humans, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, 460000, Orenburg, Russia; Prof., Department of chemistry, Orenburg State Medical University, 460000, Orenburg, Russia.

ORCID ID: 0000-0003-1866-1678. E-mail: sgibnew72@gmail.com

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



## Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России

Селянская Н.А.<sup>✉</sup>, Водопьянов С.О., Рыкова В.А., Соколова Е.П.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344019, Ростов-на-Дону, Россия

**Цель.** Детекция SXT-элементов в холерных вибрионах O1 и nonO1/nonO139 серогрупп и исследование эффективности их конъюгативной передачи в клетки *Escherichia coli*.

**Материалы и методы.** В опытах конъюгации в качестве доноров использовали штаммы *Vibrio cholerae* O1 El Tor ( $n = 3$ ) и *V. cholerae* nonO1/nonO139 ( $n = 3$ ). Штаммы (доноры, реципиенты и трансконъюганты) тестировали в полимеразной цепной реакции в формате реального времени на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов лекарственной устойчивости и гена интегразы (*int*). Проводили электрофорез в 0,7% геле агарозы с окраской бромистым этидием.

**Результаты.** Устойчивость к левомецетину, триметоприму/сульфаметоксазолу, стрептомицину передавалась в опытах конъюгации с частотой от  $2,1 \times 10^{-9}$  до  $7,1 \times 10^{-9}$ . У большинства штаммов *V. cholerae* обнаружены гены *int* и *dfrA1* (устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу), которые стабильно передавались клеткам *E. coli* QD Rif<sup>r</sup> и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Na<sup>r</sup>.

**Заключение.** Обнаружение SXT-элемента в штаммах *V. cholerae* и его успешный горизонтальный перенос подчеркивают необходимость детекции таких мобильных генетических элементов для контроля над распространением антибиотикорезистентности у *V. cholerae*.

**Ключевые слова:** SXT-элемент; *Vibrio cholerae*; конъюгация.

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

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

**Для цитирования:** Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Рыкова В.А., Соколова Е.П. Трансмиссивная антибиотикоустойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 258–264.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-8>

Поступила 15.11.2019

Принята в печать 18.12.2019

## Transmissible Antibiotic Resistance, Associated with the SXT Element, in Cholera Vibrios Isolated in the Territory of Russia

Nadejda A. Selyanskaya<sup>✉</sup>, Sergey O. Vodop'yanov, Violetta A. Rykova, Elena P. Sokolova

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia, 344019, Rostov-on-Don

**Aim.** Detection of SXT elements in cholera vibrios O1 and nonO1/nonO139 serogroups and study of the effectiveness of their conjugative transmission to *Escherichia coli* cells.

**Materials and methods.** In conjugation experiments, *Vibrio cholerae* O1 El Tor (3) and *V. cholerae* nonO1/nonO139 (3) strains were used as donors. Donor strains, recipients, and transconjugants were tested in real-time PCR for sensitivity to antibiotics and for the presence of drug resistance genes and integrase gene (*int*). Electrophoresis was carried out on a 0.7% agarose gel with ethidium bromide staining.

**Results.** Resistance to chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, streptomycin was transmitted in conjugation experiments with a frequency of  $2.1 \times 10^{-9}$ – $7.1 \times 10^{-9}$ . The genes *int* and *dfrA1* (resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole) were found in most *V. cholerae* strains, and were stably transmitted to *E. coli* QD Rif<sup>r</sup> cells and in reverse crosses of *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Na<sup>r</sup>.

**Conclusion.** The detection of the SXT element in *V. cholerae* strains and its successful horizontal transfer emphasize the need to detect such mobile genetic elements to control the spread of antibiotic resistance in *V. cholerae*.

**Keywords:** SXT element; *Vibrio cholerae*; conjugation.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Selyanskaya N.A., Vodop'yanov S.O., Rykova V.A., Sokolova E.P. Transmissible antibiotic resistance, associated with the SXT element, in cholera vibrios isolated in the territory of Russia. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3.): 258–264. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-8>

Received 15 November 2019

Accepted 18 December 2019

## Введение

В настоящее время во всем мире выделяются штаммы холерных вибрионов, обладающие множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам [1, 2]. Исследования, направленные на изучение роли отдельных элементов генома в устойчивости к антибиотикам у бактерий, показали, что гены антибиотикорезистентности у *Vibrio cholerae* могут входить в состав трансмиссивных плазмид и интегративных конъюгативных элементов [3].

Важную роль в формировании множественной устойчивости возбудителя холеры к антимикробным соединениям играют SXT-элементы, содержащие гены, ответственные за антибиотикорезистентность и другие адаптивные проявления у бактерий и способные интегрироваться в бактериальный геном и передаваться посредством конъюгации [4, 5]. SXT-элементы широко распространены у холерных вибрионов различных серогрупп [6–8]. При этом наблюдаются различия как в их структуре, так и в характере локализации генов антибиотикорезистентности [9]. В связи с этим актуально изучение процессов приобретения и утраты генетических элементов, ответственных за устойчивость *V. cholerae* к различным антибактериальным препаратам [10].

**Целью** данной работы явилась детекция SXT-элементов в холерных вибрионах O1 и nonO1/nonO139 серогрупп и исследование эффективности их конъюгативной передачи из клеток *V. cholerae* в клетки *Escherichia coli*.

## Материалы и методы

В работе использовали множественно устойчивые штаммы *V. cholerae* O1 El Tor ( $n = 3$ ) и *V. cholerae* nonO1/nonO139 ( $n = 3$ ), выделенные на территории России, а также *V. cholerae* O1 El Tor 5879 и *E. coli* QD5003 Rif. Все штаммы получены из Музея живых культур ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт».

Чувствительность/устойчивость штаммов к 22 антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде в соответствии с МУК 4.2.2495-09 [11].

Конъюгативную передачу г-детерминант резистентности в составе SXT от штаммов-доноров

клеткам штаммов-реципиентов осуществляли путем совместного культивирования 18-часовых бульонных культур штамма-донора и штамма-реципиента (в соотношении 1:2) в течение 3–4 ч при 37°C с последующим высевом на плотные питательные среды, содержащие антибактериальные препараты для селекции трансконъюгантов (ТК) и контрселекции донора и реципиента. Частоту передачи выражали как отношение числа выросших ТК к общему числу живых бактерий, использованных для посева.

Выделение ДНК, ПЦР и учет результатов проводили, как описано ранее [12]. В качестве маркера для обнаружения SXT в штаммах использовали ген интегразы (*int*) [13]. Для подтверждения факта переноса генов отобранные ТК тестировали на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов лекарственной устойчивости к тетрациклам (*tetR*), фторхинолонам (*qnrVC1*), триметоприму (*dfrA1*) и хлорамфениколу (*floR*), которые выявляли с помощью ПЦР в формате реального времени [14].

Для анализа автономных мобильных генетических элементов с помощью электрофореза ДНК из клеток выделяли по методике [15], электрофорез проводили в 0,7% геле агарозы с последующей окраской бромистым этидием. Контролем в этих экспериментах служили клетки вакцинного штамма *Yersinia pestis EV*, содержащие 3 плазмиды с молекулярной массой 6, 47 и 65 МДа.

## Результаты

Все штаммы холерных вибрионов были устойчивы к триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 1). Устойчивостью к налидиксовой кислоте и фуразолидону обладали 4 штамма из 6, к стрептомицину — 5 штаммов. Один штамм (*V. cholerae* O1 El Tor 3265/80) имел промежуточную устойчивость к левомецетину: минимальная подавляющая концентрация (МПК) 8 мг/л.

Сравнительное изучение антибиотикограмм доноров, реципиентов, ТК показало отсутствие передачи устойчивости к налидиксовой кислоте и фуразолидону. По данным литературы, гены устойчивости к этим антибактериальным препаратам локализованы на хромосоме [16, 17].

Маркеры устойчивости к левомецетину, триметоприму/сульфаметоксазолу, стрептомицину ока-

Таблица 1. Значения МПК (мг/л) штаммов *V. cholerae*Table 1. MICs (mg/l) of strains of *V. cholerae*

Антибактериальный препарат Antimicrobial agent	Пограничные значения МПК, мг/л MIC breakpoints, mg/l		<i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139			<i>V. cholerae</i> O1 El Tor		
	S	R	372	375	117	301	6878	3265/80
Доксициклин Doxycycline	≤2,0	>8,0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Тетрациклин Tetracycline	≤4,0	>8,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Левомецетин Chloramphenicol	≤4,0	≥16,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	8,0
Налидиксовая кислота Nalidixic acid	≤4,0	≥16,0	512,0	2,0	4,0	512,0	512,0	512,0
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	<0,1	≥1,0	0,001	0,002	0,001	0,005	0,005	0,02
Стрептомицин Streptomycin	≤16,0	>32,0	2,0	128,0	64,0	128,0	64,0	128,0
Гентамицин Gentamicin	≤4,0	>8,0	1,0	1,0	2,0	1,0	1,0	1,0
Ампициллин Ampicillin	≤4,0	≥16,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Цефтриаксон Ceftriaxone	<1,0	≥8,0	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5
Рифампицин Rifampicin	≤4,0	≥16,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Фуразолидон Furazolidone	≤4,0	≥16,0	4,0	16,0	16,0	16,0	64,0	4,0
Триметоприм/сульфаметоксазол Trimethoprim/sulfamethoxazole	≤2,0/3	≥8,0/152,0	128,0/640,0	64,0/320,0	64,0/320,0	128,0/640,0	128,0/640,0	128,0/640,0

Примечание. S — чувствительный; R — устойчивый.

Note. S — sensitive; R — resistant.

зались трансмиссивны. Они передавались в опытах конъюгации от *V. cholerae* к *E. coli* QD5003 Rif<sup>r</sup> и обратно к *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup> с частотой  $2,1 \times 10^{-9}$ – $7,1 \times 10^{-9}$ . Степень устойчивости к триметоприму/сульфаметоксазолу и стрептомицину была идентичной как у доноров, так и у ТК. Однако ТК, полученные при использовании в качестве донора штамма *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80, имели значения МПК левомицетина более высокие (32 мг/л), чем донорский штамм (8 мг/л). Аналогичные факты дифференциальной экспрессии механизмов устойчивости к тетрациклину и хлорамфениколу между *V. cholerae* и *E. coli* были описаны A. Sarkar и соавт. [18]. Авторы предположили связь данного явления с эффектом «дозировки генов» или отсутствием репрессора в новой генетической среде реципиента. Этот факт может быть связан с различиями в строении клеточной стенки *E. coli* и *V. cholerae*, у которых может отсутствовать барьер проницаемости или активный механизм оттока лекарств, усиливаю-

щий поступление антибиотика в клетку. В работах некоторых зарубежных авторов описаны ТК, демонстрирующие более высокую лекарственную устойчивость к цефалоспорином и карбапенемам в сравнении со штаммами-донорами [19, 20].

Таким образом, множественно устойчивые штаммы *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* nonO1/nonO139 содержат в своем геноме как трансмиссивные (стрептомицин, левомицетин, триметоприм/сульфаметоксазол), так и нетрансмиссивные (налидиксовая кислота, фуразолидон) г-детерминанты резистентности к препаратам, применяемым для экстренной профилактики и этиотропной терапии холеры.

При электрофоретическом разделении суммарных ДНК штаммов-доноров, реципиентов и ТК на электрофореграмме отсутствовали полосы внехромосомальной ДНК, за исключением донорского штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139 372, имеющего плазмиду молекулярной массой около 4 МДа, пере-

дачи которой не зафиксировано (рисунок). Однако положительные результаты конъюгативного переноса генов резистентности позволяют предположить их интеграцию в хромосому, что подтвердилось наличием у большинства штаммов *V. cholerae*, взятых в исследование, гена *int*, который стабильно передавался клеткам *E. coli* QD Rif<sup>r</sup> и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup>.

Детекция генов антибиотикорезистентности выявила, что фенотипическая устойчивость штам-

мов к триметоприму/сульфаметоксазолу коррелировала с наличием в них генов устойчивости *dfrA1* (табл. 2).

Среди изученных штаммов фенотипом левомицетинорезистентности обладал лишь штамм *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80. Однако ген устойчивости к левомицетину (*floR*) был обнаружен во всех исследованных штаммах *V. cholerae* O1 El Tor и в одном штамме *V. cholerae* nonO1/nonO139. Гены *floR* передавались в опытах конъюгации клеткам

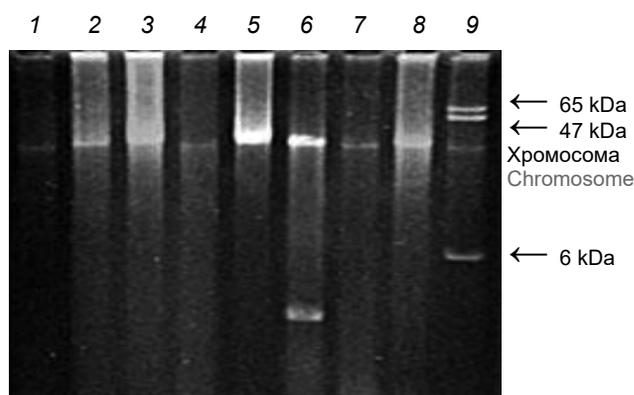
**Таблица 2. Способность маркеров резистентности штаммов *V. cholerae* O1 El Tor и *V. cholerae* nonO1/nonO139 к трансмиссивной передаче *E. coli* QD5003 Rif<sup>r</sup>**

**Table 2. Ability of markers of resistance of *V. cholerae* O1 El Tor and *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains to transmission of *E. coli* QD5003 Rif<sup>r</sup>**

Штаммы микроорганизмов Microorganism strains	Фенотипы Phenotypes	Гены Genes				
		<i>qnr</i>	<i>dfrA1</i>	<i>floR</i>	<i>tet</i>	<i>int</i>
R <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup>	Rif <sup>r</sup>	-	-	-	-	-
D <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 372	Nal <sup>r</sup> Tmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>372</sub>	Rif <sup>r</sup> Tmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 375	Fur <sup>r</sup> SmTmp/Smz	+	+	-	-	-
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>375</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
D <i>V. cholerae</i> nonO1/nonO139 117	Fur <sup>r</sup> SmTmp/Smz	+	+	-	-	-
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>117</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
D <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 6878	Nal <sup>r</sup> Fur <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>6878</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 3265/80	Nal <sup>r</sup> Fur <sup>r</sup> SmCmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>3265/80</sub>	Rif <sup>r</sup> CmSmTmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 301	Nal <sup>r</sup> Fur <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>301</sub>	Rif <sup>r</sup> CmTmp/SmzSm	-	+	+	-	+
R <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup>	Nal <sup>r</sup>	-	-	-	-	-
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>372</sub>	Rif <sup>r</sup> Tmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>372</sub>	Nal <sup>r</sup> Tmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>375</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>375</sub>	Nal <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>117</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>117</sub>	Nal <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	-	-	-
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>6878</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>6878</sub>	Nal <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>301</sub>	Rif <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>301</sub>	Nal <sup>r</sup> SmTmp/Smz	-	+	+	-	+
D <i>E. coli</i> QD Rif <sup>r</sup> + R <sub>3265/80</sub>	Rif <sup>r</sup> CmSmTmp/Smz	-	+	+	-	+
T <i>V. cholerae</i> 5879 Nal <sup>r</sup> + R <sub>3265/80</sub>	Nal <sup>r</sup> CmSmTmp/Smz	-	+	+	-	+

**Примечание.** R — реципиент; D — донор; T — ТК. Маркеры устойчивости: Nal<sup>r</sup> — к налидиксовой кислоте; Rif<sup>r</sup> — к рифампицину; Sm — к стрептомицину; Cm — к левомицетину; Tmp/Smz — к триметоприму/сульфаметоксазолу. Гены: *int* — интегразы; *qnr* — устойчивости к фторхинолонам; *dfrA1* — устойчивости к триметоприму; *floR* — устойчивости к левомицетину; *tet* — устойчивости к тетрациклину; +/- — наличие либо отсутствие признака.

**Note.** R — recipient; D — donor; T — transconjugant. Markers of resistance: Nal<sup>r</sup> — nalidixic acid; Rif<sup>r</sup> — rifampicin; Sm — streptomycin; Cm — chloramphenicol; Tmp/Smz — trimethoprim/sulfamethoxazole. Genes: *int* — integrase; *qnr* — resistance to quinolones; *dfrA1* — resistance to trimethoprim; *floR* — resistance to chloramphenicol; *tet* — resistance to tetracycline; +/- — presence or absence of the marker.



Электрофорез по Кадо.

1 — реципиент *E. coli* QD Rif; 2 — реципиент *V. cholerae* 5879 Nal; 3 — донор *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80; 4 — ТК *E. coli* QD Rif+ R<sub>3265/80</sub>; 5 — ТК *V. cholerae* 5879 Nal+ R<sub>3265/80</sub>; 6 — донор *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 7 — ТК *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 8 — ТК *V. cholerae* 5879 Nal+ R<sub>372</sub>; 9 — *Y. pestis* EV.

Electrophoresis by Kado

1 — recipient *E. coli* QD Rif; 2 — recipient *V. cholerae* 5879 Nal; 3 — donor *V. cholerae* O1 El Tor 3265/80; 4 — transconjugant *E. coli* QD Rif+ R<sub>3265/80</sub>; 5 — transconjugant *V. cholerae* 5879 Nal+ R<sub>3265/80</sub>; 6 — donor *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 7 — transconjugant *V. cholerae* nonO1/nonO139 372; 8 — transconjugant *V. cholerae* 5879 Nal+ R<sub>372</sub>; 9 — *Y. pestis* EV.

*E. coli* QD5003 Rif<sup>r</sup> и в обратных кроссах *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup>.

Несмотря на сообщения о присутствии детерминант резистентности к тетрациклину в интегративных конъюгативных элементах клинических изолятов, выделенных после 2000 г. в разных регионах мира (Мозамбик, Бангладеш, Вьетнам, Лаос, Гаити) [21–23], у изученных штаммов не обнаружено генов устойчивости к тетрациклину.

### Обсуждение

Наблюдения G.J. Varsak и соавт. [24] свидетельствуют о наличии индуцибельной реверсируемой устойчивости к тетрациклину и хлорамфениколу у *Flexibacter spp.* Известно и о наличии молчащего гена левомицетинорезистентности у *V. cholerae* El Tor [25]. В экспериментах, проведенных нами ранее, показано, что устойчивость к левомицетину и тетрациклину у холерного вибриона может не проявляться фенотипически даже при наличии в геноме генов резистентности к этим препаратам [26].

Также выявлено наличие генов устойчивости к фторхинолонам (*qnr*) в штаммах *V. cholerae* nonO1/nonO139 375 и *V. cholerae* nonO1/nonO139 117, которые не передавались ТК. В литературе описаны трансферабельные гены *qnr*, расположенные в SXT-элементе холерного вибриона [27], однако в нашем эксперименте в этих штаммах не обнаружен ген *int*, что может свидетельствовать об отсутствии SXT либо о наличии нового типа этой генетической структуры, как было показано в предыдущих исследованиях [12, 28].

Таким образом, обнаружение SXT-элемента в изученных штаммах *V. cholerae* и его успешный горизонтальный перенос подчеркивают необходимость детекции таких мобильных генетических элементов для контроля над распространением антибиотикорезистентности у *V. cholerae*.

### ЛИТЕРАТУРА

- Егиазарян Л.А., Селянская Н.А., Захарова И.Б., Подшивалова М.В., Березняк Е.А., Веркина Л.М. и др. Антибиотикорезистентность холерных вибрионов Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации в 2006–2015 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(1): 25–30. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-1-25-30>
- Feglo P.K., Sewurah M. Characterization of highly virulent multidrug resistant *Vibrio cholerae* isolated from a large cholera outbreak in Ghana. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 45. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-017-2923-z>
- Mala W., Faksri K., Samerpitak K., Yordpratum U., Kaewkes W., Tattawasart U., et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 52: 89–95. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.013>
- Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ SXT констита антибиотикочувствительного штамма *Vibrio cholerae* не O1/не O139 серогруппы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; (3): 102–3.
- Никифоров К.А., Анисимова Л.В., Одинокоев Г.Н., Фадеева А.В., Новичкова Л.А., Ерошенко Г.А. и др. Конструирование комплекта праймеров для детекции генов антибиотикоустойчивости у возбудителей опасных бактериальных инфекций на примере штаммов *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 57–60.
- Захарова И.Б., Кузютина Ю.А., Подшивалова М.В., Замарин А.А., Топорков А.В., Викторов Д.В. Детекция и анализ интегративных конъюгативных элементов в штаммах *Vibrio spp.*, выделенных на территории Волгоградской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(6): 347–51. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-6-347-351>
- Замарин А.А., Захарова И.Б., Подшивалова М.В., Кузютина Ю.А., Тетерятникова Н.Н., Лопастейская Я.А. и др. Характеристика интегративных конъюгативных элементов штаммов нехолерных вибрионов, выделенных на территории Волгоградской области. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2016; (2): 104–6.
- Заднова С.П., Смирнова Н.И. Выявление генов антибиотикоустойчивости в штаммах *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; (3): 3–10.
- Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Титова С.В. Распространенность ICE элементов различных типов у *V. cholerae*. *Здоровье населения и среда обитания*. 2018; (1): 33–5. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-33-35>
- Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., et al. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(13): 6226–31. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1900141116>
- МУК 4.2.2495-09. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. М.; 2009.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н., Кругликов В.Д., Архангельская И.В. и др.

- INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2015; (5): 41-4.
13. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Colombo M.M. Rapid detection by multiplex PCR of Genomic Islands, prophages and Integrative Conjugative Elements in *V. cholerae* 7<sup>th</sup> pandemic variants. *J. Microbiol. Methods*. 2012; 88(1): 98-102. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.017>
  14. Крицкий А.А., Челдышова Л.Б., Заднова С.П., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Способ одновременного выявления штаммов *Vibrio cholerae* и определения в их геноме генов лекарственной устойчивости с помощью ПЦР в режиме реального времени. *Биотехнология*. 2018; 34(2): 70-9. DOI: <http://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79>
  15. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3): 1365-73.
  16. Martínez-Puchol S., Gomes C., Pons M.J., Ruiz-Roldán L., Torrents de la Peña A., Ochoa T.J., et al. Development and analysis of furazolidone-resistant *Escherichia coli* mutants. *APMIS*. 2015; 123(8): 676-81. DOI: <http://doi.org/10.1111/apm.12401>
  17. Marin M.A., Thompson C.C., Freitas F.S., Fonseca E.L., Aboderin A.O., Zailani S.B., et al. Cholera outbreaks in Nigeria are associated with multidrug resistant atypical El Tor and non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2): e2049. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002049>
  18. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., et al. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2072. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02072>
  19. Petroni A., Corso A., Melano R., Cacace M.L., Bru A.M., Rossi A., et al. Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(5): 1462-8. DOI: <http://doi.org/10.1128/aac.46.5.1462-1468.2002>
  20. Sarkar A., Pazhan G.P., Chowdhury G., Ghosh A., Ramamurthy T. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Senftenberg. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 969. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00969>
  21. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aadA2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48(6): 827-38. DOI: <http://doi.org/10.1093/jac/48.6.827>
  22. Shah M.R., Nur A.H., Alam M., Sadique A., Sultana M., Hoq M.M., et al. *Vibrio cholerae* O1 with reduced susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin isolated from a rural coastal area of Bangladesh. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 252. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017>
  23. Ehara M., Nguyen B.M., Nguyen D.T., Toma C., Higa N., Iwanaga M. Drug susceptibility and its genetic basis in epidemic *Vibrio cholerae* O1 in Vietnam. *Epidemiol. Infect.* 2004; 132(4): 595-600. DOI: <http://doi.org/10.1017/s0950268804002596>
  24. Barcak G.J., Barchard R.P. Induction of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Flexibacter sp.* strain FS-1. *J. Bacteriol.* 1985; 161(2): 810-2.
  25. Rowe-Magnus P.A., Guerout A.M., Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes. *Mol. Microbiol.* 2002; 43(6): 1657-69. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x>
  26. Селянская Н.А., Рыжко И.В., Веркина Л.М., Тришина А.В., Миронова А.В. Индукция *in vitro* трансмиссивной устойчивости к тетрациклину, левомицетину и ампициллину у культур *Vibrio cholerae* неO1/неO139 серогрупп, выделенных в 1990–2005 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2011; 56(7-8): 16-21.
  27. Kim H.B., Wang M., Ahmed S., Park C.H., LaRocque R.C., Faruque A.S., et al. Transferable Quinolone Resistance in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(2): 799-803. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.01045-09>
  28. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Hasan N.A., Lansingd S., Huqa A., Colwell R.R. A new integrative conjugative element detected in Haitian isolates of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139. *Res. Microbiol.* 2013; 164(9): 891-3. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.08.004>

## REFERENCES

1. Egiazaryan L.A., Selyanskaya N.A., Zakharova I.B., Podshivalova M.V., Bereznyak E.A., Verkina L.M., et al. Antibiotic resistance of *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolated on the territory of the Russian Federation in 2006–2015. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2017; 22(1): 25-30. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-1-25-30> (in Russian)
2. Feglo P.K., Sewurah M. Characterization of highly virulent multidrug resistant *Vibrio cholerae* isolated from a large cholera outbreak in Ghana. *BMC Res. Notes*. 2018; 11(1): 45. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-017-2923-z>
3. Mala W., Faksri K.? Samerpitak K., Yordpratum U., Kaewkes W., Tattawasart U., et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 52: 89-95. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.013>
4. Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Analysis of the SXT constin of antibiotic-sensitive *Vibrio cholerae* strain of Non-O1/ Non-O139 serogroup. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2012; (3): 102-3. (in Russian)
5. Nikiforov K.A., Anisimova L.V., Odinokov G.N., Fadeeva A.V., Novichkova L.A., Eroshenko G.A., et al. Development of a set of primers for drug-resistance genes detection in the agents of dangerous bacterial infections as exemplified by *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* strains. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2014; (3): 57-60. (in Russian)
6. Zakharova I.B., Kuzyutina Yu.A., Podshivalova M.V., Zamarin A.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Detection and analysis of integrative conjugative elements in *Vibrio spp.* strains, isolated in the Volgograd region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2016; 21(6): 347-51. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-6-347-351> (in Russian)
7. Zamarin A.A., Zakharova I.B., Podshivalova M.V., Kuzyutina Yu.A., Teteryatnikova N.N., Lopasteyskaya Ya.A., et al. Characteristics of integrative conjugative elements of non-cholerae *Vibrio* strains in the Volgograd region. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016; (2): 104-6. (in Russian)
8. Zаднова S.P., Смирнова N.I. Isolation of antibiotics resistance genes in *Vibrio cholerae* O1 and O139 serogroup strains. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015; (3): 3-10. (in Russian)
9. Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Oleynikov I.P., Titova S.V. Prevalence of ICE elements of different types in *V. cholerae*. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2018; (1): 33-5. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2018-298-1-33-35> (in Russian)
10. Verma J., Bag S., Saha B., Kumar P., Ghosh T.S., Dayal M., et al. Genomic plasticity associated with antimicrobial resistance in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019; 116(13): 6226-31. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1900141116>
11. Guidelines MU 4.2.2495-09. Identification of the pathogens of dangerous bacterial infections (plague, anthrax, cholera, tularemia, brucellosis, glanders, melioidosis) to antibacterial medicines. Moscow; 2009. (in Russian)

12. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N., Arkhangel'skaya I.V., et al. INDEL- и VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (5): 41-4. (in Russian)
13. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Colombo M.M. Rapid detection by multiplex PCR of Genomic Islands, prophages and Integrative Conjugative Elements in *V. cholerae* 7th pandemic variants. *J. Microbiol. Methods*. 2012; 88(1): 98-102.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.017>
14. Kritskiy A.A., Cheldyshova L.B., Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. A method for simultaneous detection of *Vibrio cholerae* strains and drug resistance genes in their genome by means of real-time PCR. *Biotekhnologiya*. 2018; 34(2): 70-9.  
DOI: <http://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79> (in Russian)
15. Kado C.I., Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.* 1981; 145(3): 1365-73.
16. Martinez-Puchol S., Gomes C., Pons M.J., Ruiz-Roldán L., Torrents de la Peña A., Ochoa T.J., et al. Development and analysis of furazolidone-resistant *Escherichia coli* mutants. *APMIS*. 2015; 123(8): 676-81.  
DOI: <http://doi.org/10.1111/apm.12401>
17. Marin M.A., Thompson C.C., Freitas F.S., Fonseca E.L., Abo-derin A.O., Zailani S.B., et al. Cholera outbreaks in Nigeria are associated with multidrug resistant atypical El Tor and non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2): e2049. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002049>
18. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., et al. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2072.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02072>
19. Petroni A., Corso A., Melano R., Cacace M.L., Bru A.M., Rossi A., et al. Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(5): 1462-8.  
DOI: <http://doi.org/10.1128/aac.46.5.1462-1468.2002>
20. Sarkar A., Pazhan G.P., Chowdhury G., Ghosh A., Ramamurthy T. Attributes of carbapenemase encoding conjugative plasmid pNDM-SAL from an extensively drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Senftenberg. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 969.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00969>
21. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aadA2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48(6): 827-38.  
DOI: <http://doi.org/10.1093/jac/48.6.827>
22. Shah M.R., Nur A.H., Alam M., Sadique A., Sultana M., Hoq M.M., et al. *Vibrio cholerae* O1 with reduced susceptibility to ciprofloxacin and azithromycin isolated from a rural coastal area of Bangladesh. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 252.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017>
23. Ehara M., Nguyen B.M., Nguyen D.T., Toma C., Higa N., Iwanaga M. Drug susceptibility and its genetic basis in epidemic *Vibrio cholerae* O1 in Vietnam. *Epidemiol. Infect.* 2004; 132(4): 595-600.  
DOI: <http://doi.org/10.1017/s0950268804002596>
24. Barcak G.J., Barchard R.P. Induction of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Flexibacter sp.* strain FS-1. *J. Bacteriol.* 1985; 161(2): 810-2.
25. Rowe-Magnus P.A., Guerout A.M., Mazel D. Bacterial resistance evolution by recruitment of super-integron gene cassettes. *Mol. Microbiol.* 2002; 43(6): 1657-69.  
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02861.x>
26. Selyanskaya N.A., Ryzhko I.V., Verkina L.M., Trishina A.V., Mironova A.V. *In vitro* induction of transmissible resistance to tetracycline, chloramphenicol and ampicillin in *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 serogroups isolated within 1990-2005. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2011; 56(7-8): 16-21. (in Russian)
27. Kim H.B., Wang M., Ahmed S., Park C.H., LaRocque R.C., Faruque A.S., et al. Transferable Quinolone Resistance in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(2): 799-803.  
DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.01045-09>
28. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Hasan N.A., Lansing S., Huqa A., Colwell R.R. A new integrative conjugative element detected in Haitian isolates of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139. *Res. Microbiol.* 2013; 164(9): 891-3.  
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.08.004>

**Информация об авторах:**

**Селянская Надежда Александровна** — к.м.н., с.н.с., и.о. зав. лаб. экспериментально-биологических моделей ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>.  
E-mail: [ppdn@inbox.ru](mailto:ppdn@inbox.ru)

**Водопьянов Сергей Олегович** — д.м.н., в.н.с., и.о. зав. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.  
E-mail: [serge100v@gmail.com](mailto:serge100v@gmail.com)

**Рыкова Виолетта Александровна** — к.б.н., с.н.с. лаб. микробиологии чумы ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3484-5100>.  
E-mail: [allet777@yandex.ru](mailto:allet777@yandex.ru)

**Соколова Елена Петровна** — к.б.н., с.н.с. лаб. эпидемиологии особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3973-6392>.  
E-mail: [sokolova64@list.ru](mailto:sokolova64@list.ru)

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Nadejda A. Selyanskaya** — PhD (Med.), senior researcher, Deputy head, Department of experimental biology models, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>.  
E-mail: [ppdn@inbox.ru](mailto:ppdn@inbox.ru)

**Sergey O. Vodop'yanov** — D. Sci. (Med.), leading researcher, Deputy head, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.  
E-mail: [serge100v@gmail.com](mailto:serge100v@gmail.com)

**Violetta A. Rykova** — PhD (Biol.), senior researcher, Department of microbiology of the plague, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3484-5100>.  
E-mail: [allet777@yandex.ru](mailto:allet777@yandex.ru)

**Elena P. Sokolova** — PhD (Biol.), senior researcher, Department of epidemiology of especially targeted infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3973-6392>.  
E-mail: [sokolova64@list.ru](mailto:sokolova64@list.ru)

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.



## Выявление штаммов *Vibrio cholerae* «гаитянской» группы с помощью полимеразной цепной реакции на основе INDEL-типирования

Водопьянов А.С.<sup>✉</sup>, Водопьянов С.О., Олейников И.П., Писанов Р.В.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344019, Ростов-на-Дону, Россия

**Цель** работы состояла в целенаправленном поиске генетического INDEL-маркера «гаитянской» группы штаммов холерных вибрионов, позволяющего проводить их идентификацию методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

**Материалы и методы.** Для поиска INDEL-маркеров использованы полученные из системы GenBank данные полногеномного секвенирования штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, изолированных на разных континентах в различные годы. Для анализа применяли авторское программное обеспечение, написанное на языке программирования Java. Для картографирования использована система NextGIS.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что делеция 8 нуклеотидов в гене *VCA1095*, расположенном на малой хромосоме и кодирующем chemotaxis protein CheA, является характерным генетическим признаком «гаитянской» группы штаммов. Разработаны праймеры для выявления данной делеции в ПЦР.

**Заключение.** Разработана методика выявления штаммов холерных вибрионов «гаитянской» группы на основе анализа INDEL-маркеров и показано распределение таких штаммов в мире до и после 2010 г.

**Ключевые слова:** холера; генотипирование; холерный токсин; CTX; полимеразная цепная реакция; INDEL.

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

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

**Для цитирования:** Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Писанов Р.В. Выявление штаммов *Vibrio cholerae* «гаитянской» группы с помощью полимеразной цепной реакции на основе INDEL-типирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(3): 265–270. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-9>

Поступила 22.12.2019  
Принята в печать 18.03.2020

## Identification of *Vibrio cholerae* Strains of the «Haitian» Group by PCR Based on INDEL-Typing

Alexey S. Vodop'yanov<sup>✉</sup>, Sergey O. Vodop'yanov, Igor P. Oleynikov, Ruslan V. Pisanov

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia, 344019, Rostov-on-Don

**The aim** of the work was to find a genetic INDEL-marker of the Haitian group of *Vibrio cholerae* strains, what allow carrying out their identification by means PCR.

**Materials and methods.** For searching INDEL-markers we used the data from GenBank database on complete genomic sequences of *V. cholerae* strains El Tor isolated in different continents in different years. For the analysis we used the author's software written in the Java programming language. The NextGIS system was used for mapping.

**Results and discussion.** We found that the deletion of 8 nucleotides in the gene *VCA1095* located on a small chromosome and encoding chemotaxis protein CheA is a characteristic genetic feature of the «Haitian» group strains. Primers have been developed to detect this deletion in PCR.

**Conclusion.** The method of detection of strains of cholera vibriions «Haitian group» on the basis of INDEL-markers was developed and the distribution of such strains in the world before and after 2010 was shown.

**Keywords:** cholera; genotyping; cholera toxin; CTX; PCR; INDEL.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

**For citation:** Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Pisanov R.V. Identification of *Vibrio cholerae* strains of the «Haitian» group by PCR based on INDEL-typing. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 265–270. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-9>

Received 22 December 2019

Accepted 18 March 2020

Расследование вспышек опасных инфекционных заболеваний требует разработки эффективных методик внутривидовой дифференцировки возбудителей и поиска генетических маркеров групп штаммов, имеющих большое эпидемиологическое значение. Так, полногеномное секвенирование штаммов *Vibrio cholerae*, вызвавших масштабную вспышку холеры на о. Гаити в 2010 г., позволило выявить единичные нуклеотидные замены (SNP) в гене *ctxB*, что привело к появлению штаммов с уникальным генотипом B7, характеризующихся повышенной вирулентностью [1, 2]. Впоследствии для выявления штаммов, несущих холерный токсин «гаитянского» типа (B7), была разработана аллель-специфичная полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3]. Однако использование для дифференциации штаммов лишь нескольких SNP в гене *ctxB*, на наш взгляд, является ненадежным методом ввиду возможности появления новых нуклеотидных замен в гене холерного токсина.

Одним из простых и удобных методов при учете результатов генотипирования с помощью ПЦР является изучение полиморфизма INDEL-маркеров. Так, разработаны схемы INDEL-генотипирования возбудителя туляремии [4] и холеры [5, 6]. Недавно предложена схема генотипирования штаммов *Y. pestis* на основе INDEL-маркеров, позволяющая быстро определять биовар с помощью ПЦР [7]. В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в целенаправленном поиске INDEL-маркера «гаитянской» группы штаммов, позволяющего проводить надежную идентификацию этих штаммов в биологическом материале методом ПЦР с электрофоретическим учетом результатов.

### Материалы и методы

Для поиска INDEL-маркеров использованы геномы «гаитянских» штаммов *V. cholerae* El Tor HC-38A1, HC-06A1, HC-23A1, HC-28A1, HC-43A1, HC-61A1, HC-48B2 и геномы штаммов, изолированных на разных континентах ранее (*V. cholerae* El Tor N16961, O395, A186, A60, A217, CRC1106, E506, E1162, M2140, E9120, 16241D, 41D, 169D, 1270D). Наименования генов и позицию INDEL-маркера указывали по референсному геному штамма *V. cholerae* N16961 (GenBank Accession Number NC002505.1 и NC002506.1). Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы «Spades» [8]. Для анализа применяли авторское программное обеспечение

GeneExpert, PrimerM и VirtualPCR, написанное на языке программирования Java, для картографирования — систему NextGIS. Встречаемость маркера в популяции *V. cholerae* оценивали по локальной базе данных, содержащей 900 геномов.

ДНК выделяли с использованием коммерческих наборов реагентов «Проба НК» («ДНК-технология») и «ДНК-Сорб-В» («АмплиСенс»).

ПЦР проводили в объеме 15 мкл в полистироловых микроцентрифужных пробирках на программируемом многоканальном термоциклере «Терцик» («ДНК-технология»). Инкубационная смесь (15 мкл) для ПЦР содержала 20 мМ трис-НСl, pH 8,6; 7 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,5 мМ ЭДТА, 100 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина, по 250 мкМ каждого из дезоксинуклеозидтрифосфатов, 0,1–1,0 мкМ соответствующего праймера, 2 ед. Taq-полимеразы и 1–10 нг хромосомальной ДНК исследуемого штамма. Режим амплификации после внесения минерального масла: денатурация — 94°C, 35 с, отжиг — 60°C, 25 с, синтез — 72°C, 35 с (всего 40 циклов).

Валидацию размера ампликонов INDEL-маркера «1095» проводили с помощью автоматической электрофорезной станции «Experion™» («Bio-Rad») с применением набора «Experion DNA 1K reagent and Supplies for 10 chips» согласно инструкции производителя.

Детекцию ампликонов и разделение аллелей по заданному локусу осуществляли в неденатурирующем 11% полиакриламидном геле (ПААГ) (2 мкл постреакционной смеси на дорожку геля, длина геля 15 см, 15–20 В/см). В качестве аллельного ладдера использовали смесь всех выявленных аллелей анализируемого локуса. Генотип штамма определяли путем сопоставления длины пробега полученных ампликонов аллелей с ладдерной ДНК после окрашивания геля бромистым этидием (1 мкг/мл) и визуализации в проходящем ультрафиолете (220 нм) трансиллюминатора «ViberLaurmat» («LKB»).

### Результаты и обсуждение

Первый этап работы выполняли в программе «GeneExpert», сравнивая попарно все INDEL-маркеры в открытых рамках считывания в геномах штаммов, обусловивших эпидемические осложнения по холере на о. Гаити и имеющих «гаитянский» вариант (B7) гена *ctxB* [2]. Это позволило оставить для дальнейшего анализа только стабильные INDEL-полиморфизмы, которые были одинаковы у всех изученных «гаитянских» штаммов.

Второй этап работы заключался в сравнительном анализе INDEL-маркеров, отобранных на первом этапе, и аналогичных маркеров токсигенных штаммов *V. cholerae*, выделенных до 2010 г. Это позволило установить, что делеция 8 нуклеотидов в гене *VCA1095* (в позиции 422–429), расположенном на малой хромосоме и кодирующем chemotaxis protein CheA, присутствует у всех «гаитянских» и отсутствует у других токсигенных (*ctxAB+*) штаммов.

На третьем этапе работы с помощью авторской программы «PrimerM» нами были сконструированы праймеры (прямой 5'-ccatcagtctgcctctgacac-3', обратный 5'-ttcgacaatcgtcagtagcg-3'), фланкирующие INDEL-маркер «1095», что дало возможность выявлять его в ПЦР *in silico*. Для этой цели нами были получены данные полногеномного секвенирования из базы данных GenBank. Обращает на себя внимание, что геномы некоторых штаммов, выделенных в последние годы, представлены только в виде первичных данных секвенирования (ридов), что побудило нас самостоятельно провести их сборку в контиги. В локальной базе полных геномов, использованных на этом этапе работы, была информация о 900 геномах штаммов *V. cholerae*, 520 из которых содержали профаг CTX (гены *ctxAB*).

Анализ локальной базы данных с помощью программы «VirtualPCR» позволил выявить делецию 8 п.о. (INDEL-маркер «1095») в гене *VCA1095*

**Таблица 1.** Штаммы *V. cholerae*, выделенные до 2010 г. и содержащие «гаитянский вариант» INDEL-маркера «1095»

**Table 1.** *Vibrio cholerae* strains, isolated before 2010 year, which contain «Haitian» variant of INDEL-marker «1095»

Штамм Strain	Год Year	Место выделения штамма Place of strain isolation	Тип <i>ctxB</i> [2] Type of <i>ctxB</i> [2]
2009V-1085	2009	США, завоз из Шри-Ланка USA, import from Sri Lanka	B7
2009V-1096	2009	США, завоз из Индии USA, import from India	B7
2009V-1131	2009	США, завоз из Индии USA, import from India	B7
2011EL-1137	2009	Южная Африка South Africa	B1
3554-08	2008	США, завоз из Непала USA, import from Nepal	B7
IDHO1_726	2009	Индия India	B7
4519	2005	Индия India	B7
MBN17	2004	Индия India	B1
4538	2007	Индия India	B7

(«гаитянский вариант») у 184 штаммов, причем ее наличие четко коррелировало с генотипом В7 гена холерного токсина *ctxB*. При этом нетоксигенные (*ctxAB-*) штаммы *V. cholerae* и штаммы nonO1/nonO139 серогруппы имели «дикий» аллель гена *VCA1095* (не содержащий делецию 8 п.о.). На наш взгляд, использование сконструированных нами праймеров является более простым и надежным методом выявления штаммов «гаитянской» группы по сравнению с известными приемами секвенирования или аллель-специфичной ПЦР [2, 3].

Большой интерес вызвало происхождение штаммов с «гаитянским вариантом» INDEL-маркера «1095». Изучение геномов штаммов *V. cholerae*, представленных в базе GenBank, с помощью программы «VirtualPCR» позволило выявить его присутствие у 9 штаммов, изолированных до возникновения вспышки на о. Гаити в 2010 г. (табл. 1). Примечательно, что у всех штаммов (кроме 2011EL-1137 и MBN17) обнаружен ген *ctxB* именно «гаитянского генотипа» (В7). Важно отметить, что ранее уже описано обнаружение штаммов, выделенных до 2010 г. и имеющих аллель В7 гена *ctxB* [3], что косвенно подтверждает наши данные. Полученные нами результаты позволяют рассматривать штаммы 2011EL-1137 и MBN17 как своего рода «прегаитянские».

Не менее интересным является анализ штаммов *V. cholerae*, выделенных после 2010 г. на о. Гаити. Использование программы «VirtualPCR» позволило выявить 74 штамма *V. cholerae*, несущих «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095» (примеры приведены в табл. 2). Обращает на себя внимание, что именно эти штаммы были занесены в города Мариуполь (2011 г.) и Москва (2012 г.). Именно в этот период в Ростове-на-Дону были выделены токсигенные штаммы, не содержащие INDEL-маркер «1095» в локусе *VCA1095* и имеющие *ctxB* генотипа В3, что подтверждает циркуляцию в настоящее время штаммов «гаитянского» и других генотипов. Также необходимо отметить, что штаммы, ежегодно выделяемые от людей в округе Дели (Индия) и полученные при вспышке холеры в Республике Йемен, тоже несут «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095» и *ctxB*, несущих аллель В7 [9].

Размер описываемой делеции в гене *VCA1095* составляет 8 нуклеотидов, что некратно стандартному кодирующему триплету, ее появление в геноме «гаитянских» штаммов приводит к сдвигу рамки считывания и формированию стоп-кодона (рис. 1). Таким образом, согласно данным биоинформационного анализа, делеция 8 п.о. приводит к синтезу трунктированного протеина размером 626 аминокислот против 720 аминокислот у штаммов «дикого» варианта. Судя по широкому распространению данной делеции, в популяции она, возможно, способствует выживанию вибрионов.

**Таблица 2.** Штаммы *V. cholerae*, выделенные после 2010 г., содержащие «гаитянский» аллель INDEL-маркера «1095»

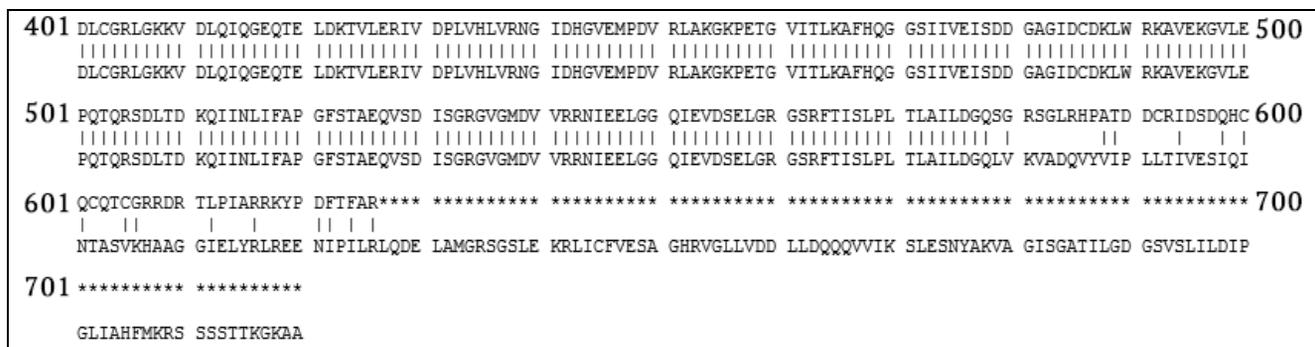
**Table 2.** *V. cholerae* strains, isolated after 2010 year, which contain «Haitian» variant of INDEL-marker «1095»

Год выделения Isolation year	Место выделения, по данным GenBank Place of strain isolation based on GenBank data
2011	Доминиканская Республика Dominican Republic
2011	Бангладеш / Bangladesh
2011	Украина, Донецкая область, Мариуполь Ukraine, Donetsk region, Mariupol
2011	Камерун / Cameroon
2012	Гаити / Haiti
2012	Россия, Москва / Russia, Moscow
2013	Индия, штат Керала India, Kerala
2014	Гаити, Юго-Восточный департамент Haiti, South-Eastern Department
2014	Уганда / Uganda
2015	Танзания, Сингида Tanzania, Singida
2015	Танзания, Мара / Tanzania, Mara
2015	Танзания, Дар-эс-Салам Tanzania, Dar es Salaam
2015	Танзания, Морогоро Tanzania, Morogoro
2015	Индия, штат Западная Бенгалия, Калькутта India, West Bengal state, Calcutta
2016	Уганда, Истерн-Уганда, Мбале Uganda, Eastern Uganda, Mbale
2016	Йемен / Yemen
2016	Индия, Дели / India, New Delhi
2017	Йемен / Yemen
2017	Индия, Дели / India, New Delhi

Следующим этапом работы было проведение ПЦР *in vitro* со сконструированными праймерами, фланкирующими делецию 8 п.о. в гене *VCA1095*. Проведение электрофореза на ДНК-чипах системы «Exregion™» позволило подтвердить соответствие размера полученных ампликонов данным биоинформационного анализа: наличие INDEL-маркера «1095» — 87 п.о. и отсутствие INDEL-маркера «1095» — 95 п.о. (нижний и верхний фрагменты на электрофореграмме соответственно).

Для дальнейшей работы нами был составлен аллельный ладдер («аллельная лестница»), содержащий амплифицированные фрагменты обоих аллелей гена *VCA1095*, что дало возможность проводить учет результатов ПЦР с помощью электрофореза в 11% ПААГ (рис. 2). На наш взгляд, это позволяет рекомендовать разработанную пару праймеров для быстрой идентификации штаммов «гаитянского» типа методом ПЦР.

Нам представлялось интересным изучить штаммы *V. cholerae*, для которых ранее были получены противоречивые результаты при проведении исследования разными группами авторов. Так, ранее анализ данных полногеномного секвенирования позволил выявить, что изоляты *V. cholerae* O1 № 19187 и 19188, выделенные в 2010 г. в Москве, согласно данным SNP-типирования относятся к штаммам «гаитянской группы» [10]. Однако при анализе с использованием другого набора SNP указанные штаммы попали в группу «непальских штаммов», дистанцированную от штаммов, вызвавших вспышку на о. Гаити [11]. Проведение как виртуальной ПЦР *in silico*, так и последующей ПЦР *in vitro* позволило установить у данных штаммов наличие «гаитянского варианта» гена *VCA1095* с присутствием INDEL-маркера «1095». В пользу

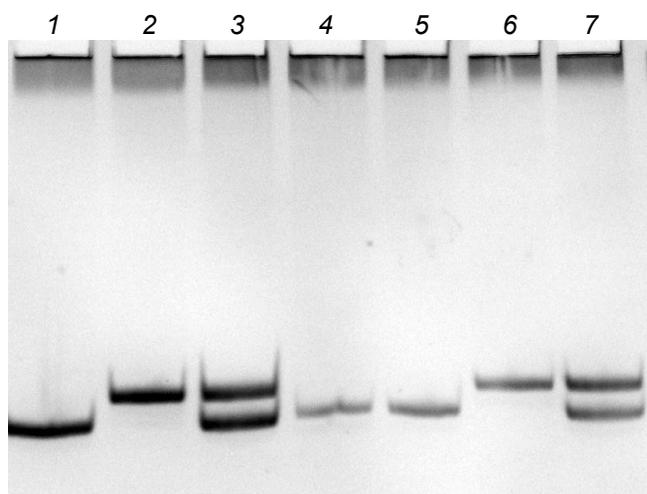


**Рис. 1.** Фрагмент выравнивания аминокислотных последовательностей белка, кодируемого геном *VCA1095*, у штамма *V. cholerae* HC1037, содержащего «гаитянский вариант» INDEL-маркера «1095» (вверху), и штамма *V. cholerae* N16961, не имеющего делеции 8 п.о. (внизу).

Звездочками указан отсутствующий фрагмент гена.

**Fig. 1.** Fragment of alignment of amino acid sequences of the protein encoded by the *VCA1095* gene in the *V. cholerae* HC1037 strain containing the «Haitian variant» of the INDEL-marker «1095» (top) and the *V. cholerae* N16961 strain, which does not have a deletion of 8 nucleotides (bottom).

Asterisks indicate the missing gene fragment.



**Рис. 2.** Результат электрофореза в 11% ПААГ продуктов амплификации образцов ДНК *V. cholerae* со специфическими праймерами, фланкирующими INDEL-маркер «1095».

3 и 7 — маркеры молекулярного веса, содержащие смесь ампликонов размером 95 и 87 п.о.; 2 и 6 — результат амплификации гена *VCA1095*, не содержащего INDEL-маркер «1095» (95 п.о.); 1, 4 и 5 — результат амплификации гена *VCA1095* «гаитянского» типа (87 п.о.) с наличием INDEL-маркера «1095».

**Fig. 2.** Results of electrophoresis in 11% PAAG of fragments of *V. cholerae* DNA amplified with specific primers flanking the INDEL-marker «1095».

3 and 7 — markers of molecular weight, containing a mixture of amplicons of size alleles 95 and 87 nucleotides; 2 and 6 — the result of amplification of gene *VCA1095* not containing the INDEL-marker «1095» (95 nucleotides); 1, 4 and 5 — the result of amplification of gene *VCA1095* «Haitian» type (87 nucleotides) with the presence of the INDEL-marker «1095».

правомочности такого результата свидетельствует наличие у данных штаммов аллеля В7 гена *ctxB*, что также является признаком «гаитянских» штаммов.

### Заключение

В ходе исследования апробирована методика целенаправленного поиска INDEL-маркеров для выявления заранее известной группы штаммов. Обнаружен «гаитянский» вариант гена *VCA1095*, содержащий INDEL-маркер «1095», являющийся отличительным признаком штаммов, обусловивших эпидемические осложнения по холере на о. Гаити в 2010 г. и в Республике Йемен в 2016–2017 гг. Сконструированы праймеры и подобраны условия для выявления делеции 8 п.о. методом ПЦР, что позволило подтвердить принадлежность штаммов *V. cholerae* O1 № 19187 и 19188, выделенных в 2010 г. в Москве, к «гаитянской» группе. Показано мировое распространение штаммов, несущих «гаитянский вариант» гена *VCA1095* с наличием INDEL-маркера «1095», до и после 2010 г.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., et al. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher

virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; (10): 111. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00111>

2. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1): 46-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>

3. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., et al. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant *ctxB* in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5): 1733-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00387-12>

4. Larsson P., Svensson K., Karlsson L., Guala D., Granberg M., Forsman M., et al. Canonical insertion-deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(11): 1725-32. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1311.070603>

5. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н., Кругликов В.Д., Архангельская И.В. и др. INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания.* 2015; (5): 41-4.

6. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae*. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2017; 22(4): 195-200. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200>

7. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., et al. Phylogeny and Classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1106. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01106>

8. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455-77. DOI: <http://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>

9. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature.* 2019; 565(7738): 230-3. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>

10. Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д. и др. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(3): 146-52. DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152>

11. Kuleshov K.V., Vodop'ianov S.O., Dedkov V.G., Markelov M.L., Deviatkin A.A., Kruglikov V.D., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(11): 2006-8. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2211.151727>

### REFERENCES

1. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., et al. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; (10): 111. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00111>

2. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1): 46-54. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2009.10.003>

3. Naha A., Pazhani G.P., Ganguly M., Ghosh S., Ramamurthy T., Nandy R.K., et al. Development and evaluation of a PCR assay for tracking the emergence and dissemination of Haitian variant *ctxB* in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from Kolkata, India. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(5): 1733-6. DOI: <http://doi.org/10.1128/JCM.00387-12>

4. Larsson P., Svensson K., Karlsson L., Guala D., Granberg M., Forsman M., et al. Canonical insertion-deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(11): 1725-32.  
DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1311.070603>
5. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., et al. INDEL- и VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2015; (5): 41-4. (in Russian)
6. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P., Mishan'kin B.N. INDEL-genotyping of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2017; 22(4): 195-200.  
DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200> (in Russian)
7. Kuttyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., et al. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1106.  
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01106>
8. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455-77.  
DOI: <http://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
9. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., et al. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019; 565(7738): 230-3.  
DOI: <http://doi.org/10.1038/s41586-018-0818-3>
10. Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Mishan'kin B.N., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D., et al. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2016; 21(3): 146-52.  
DOI: <http://doi.org/10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152> (in Russian)
11. Kuleshov K.V., Vodop'yanov S.O., Dedkov V.G., Markelov M.L., Deviatkin A.A., Kruglikov V.D., et al. Travel-associated *Vibrio cholerae* O1 El Tor, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(11): 2006-8.  
DOI: <http://doi.org/10.3201/eid2211.151727>

**Информация об авторах:**

**Водопьянов Алексей Сергеевич** — к.м.н., с.н.с. группы вирусологии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>.  
E-mail: alexvod@gmail.com

**Водопьянов Сергей Олегович** — д.м.н., зав. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.

**Олейников Игорь Павлович** — н.с. лаб. биохимии микробов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>.

**Писанов Руслан Вячеславович** — к.б.н., зав. лаб. диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7178-8021>.

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

**Alexey S. Vodop'yanov** — PhD (Med.), senior researcher, Virology group, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, 344002, Rostov-on-Don, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>.  
E-mail: alexvod@gmail.com

**Sergey O. Vodop'yanov** — D. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>.  
E-mail: serge100v@gmail.com.

**Igor P. Oleynikov** — researcher, Department of microbial chemistry, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2390-9773>.

**Ruslan V. Pisanov** — PhD (Biol.), Head, Department of epidemiology of especially targeted infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, 344019, Rostov-on-Don, Russia.  
ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-7178-8021>.

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

## ОБЗОРЫ

© Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., 2020



## Молекулярные механизмы персистенции бактерий

Андрюков Б.Г.<sup>1,2✉</sup>, Ляпун И.Н.<sup>1</sup><sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Минобрнауки РФ, 690087, Владивосток, Россия;<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», 690087, Владивосток, Россия

Высокий уровень смертности от инфекционных болезней в значительной степени опосредован повсеместным и неконтролируемым использованием антибиотиков, что привело к появлению лекарственно-резистентных штаммов бактерий. Быстрая эволюция резистентности бактерий к антимикробным препаратам является серьезным вызовом для современного здравоохранения, обуславливает необходимость создания новых антибиотических средств, а также активизации изучения молекулярных механизмов, лежащих в основе формирования устойчивости микроорганизмов. Одним из таких механизмов является бактериальная персистенция, которая проявляется образованием в микробной культуре клеток-персистеров, являющихся фенотипическим вариантом изогенной популяции. Персистенция бактерий может возникать самопроизвольно, независимо от воздействия антимикробных средств или причин, связанных с окружающей средой (недостаток питательных веществ, окислительный стресс или гипоксия). Эта небольшая по численности генерация клеток способна сохранять жизнеспособность даже в присутствии антимикробных средств в концентрациях, многократно превышающих терапевтические. Наличие в организме персистерных клеток патогенных бактерий снижает эффективность антибиотического лечения не в связи с генотипической лекарственной устойчивостью микроорганизма, а вследствие наличия фенотипической резистентности клеток-персистеров. Различие принципиальное, поскольку персистеры нечувствительны ко всем антибиотикам и для их эрадикации необходима разработка принципиально новых антимикробных стратегий. Клетки-персистеры представляют собой фенотипические варианты материнской культуры бактерий, которые присутствуют во всех популяциях микроорганизмов, а после наступления благоприятных условий способны рекультивироваться и сформировать новую генерацию вегетативных бактерий. В обзоре рассмотрены современные концепции молекулярно-генетических механизмов персистенции бактерий с акцентом на их клиническое значение для возникновения персистирующих инфекций, а также обсуждаются инновационные технологии эрадикации устойчивых клеточных форм микроорганизмов.

**Ключевые слова:** персистенция бактерий; персистирующие инфекции; молекулярные механизмы; клетки-персистеры; резистентность; эрадикация; современные технологии.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания по теме НИР № 0545-2019-0007 «Молекулярные механизмы образования устойчивых некультивируемых форм бактерий».

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

**Для цитирования:** Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Молекулярные механизмы персистенции бактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2020; 97(3): 271–279.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-10>

Поступила 02.03.2020  
Принята в печать 16.04.2020

## Molecular Mechanisms of Persistence of Bacteria

Boris G. Andryukov<sup>1,2✉</sup>, Irina N. Lyapun<sup>1</sup><sup>1</sup>Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia;<sup>2</sup>Pacific State Medical University, 690087, Vladivostok, Russia

A significant mortality rate from infectious diseases is largely mediated by the widespread and uncontrolled use of antibiotics, which has led to the emergence of drug-resistant strains of bacteria. The rapid evolution of

bacterial resistance to antimicrobials is a serious challenge for modern health care, mediates the need to create new antibiotic agents, as well as to intensify the study of molecular mechanisms underlying the formation of microorganism resistance. One of these mechanisms is bacterial persistence, manifested by the formation of persistent cells in the culture, which are a phenotypic variant of the isogenic population. The persistence of bacteria can occur spontaneously, regardless of exposure to antimicrobials or environmental reasons, such as lack of nutrients, oxidative stress or hypoxia. This small cell subpopulation is able to maintain viability even in the presence of antimicrobial agents at concentrations many times higher than therapeutic. The presence of persistent cells of pathogenic bacteria in the host organism reduces the effectiveness of antibiotic treatment, not due to the genotypic drug resistance of the microorganism, but due to the presence of phenotypic resistance of persister cells. The difference is fundamental, since cell-persisters are insensitive to any antibiotics and the development of fundamentally new antimicrobial strategies is necessary for their eradication. Persister cells are phenotypic variants of the maternal culture of bacteria that are present in all populations of microorganisms, and after the onset of favorable conditions, they are able to reclaim and form a new generation of vegetative bacteria. This review discusses modern concepts of the molecular genetic mechanisms of bacterial persistence with an emphasis on their clinical significance for the occurrence of persistent infections, and discusses innovative technologies for the eradication of resistant cell forms of microorganisms.

**Keywords:** *bacterial persistence; persistent infections; molecular mechanisms; persister cells; resistance; eradication; modern technologies.*

**Acknowledgments.** This work was carried out as part of a state assignment on the topic of research No. 0545-2019-0007 «Molecular mechanisms of the formation of stable uncultivated forms of bacteria».

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

**For citation:** Andryukov B.G., Lyapun I.N. Molecular mechanisms of persistence of bacteria. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(3): 271–279. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-10>

Received 2 March 2020  
Accepted 16 April 2020

## Введение

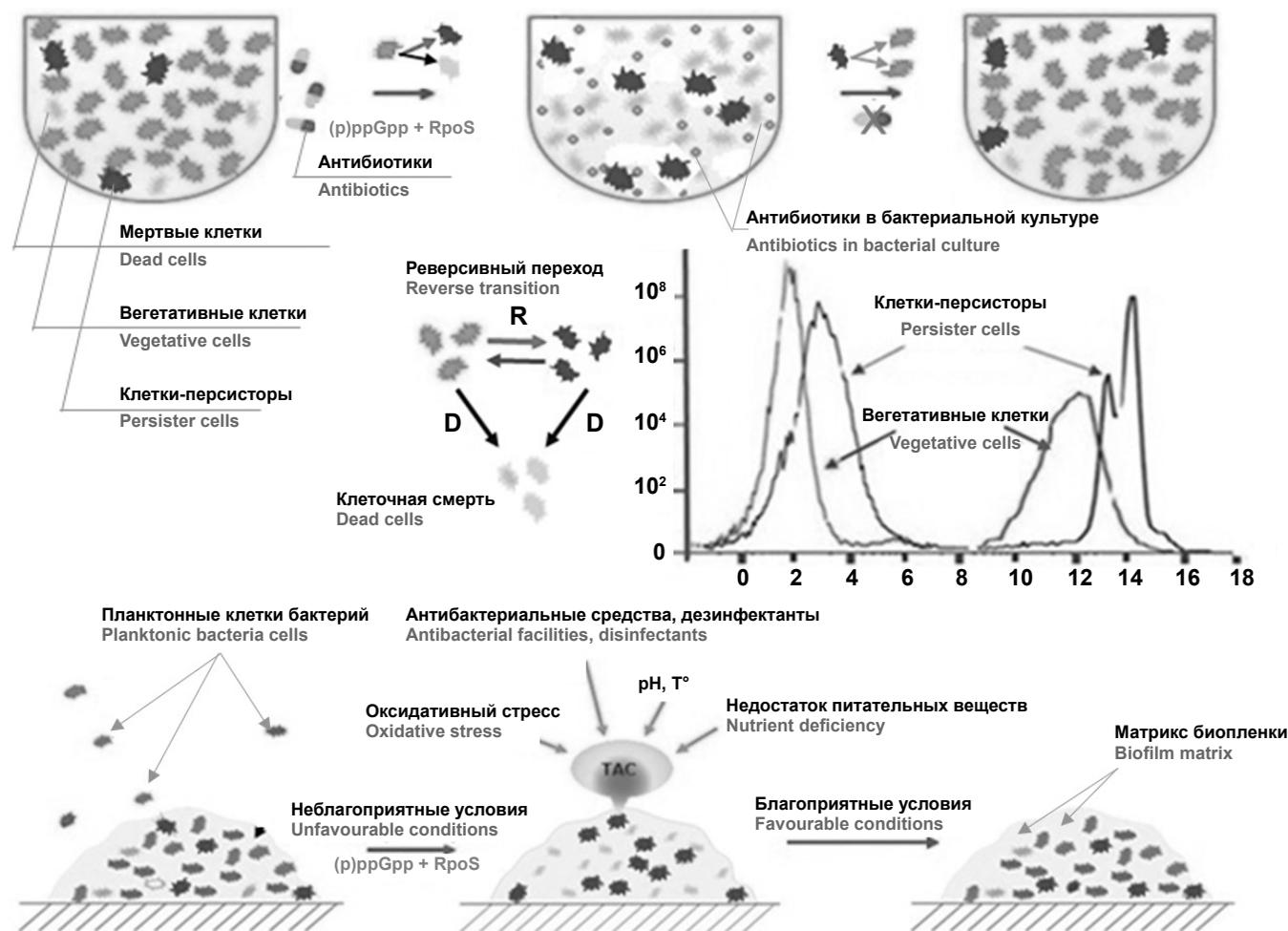
Вскоре после открытия и триумфального применения для лечения бактериальных инфекций антибиотиков, ознаменовавших начало новой исторической эпохи в медицине, американский микробиолог Gladys L. Hobby (1942) впервые обратила внимание на загадочное явление — отсутствие полной стерилизации пенициллином культуры *S. aureus* [1]. Небольшая выжившая часть клеток продолжала оставаться жизнеспособной, а при наступлении благоприятных условий давала начало новой микробной популяции — такой же чувствительной к антибиотикам.

Это наблюдение стало убедительным доказательством того, что новая популяция бактерий сохранила биологические свойства материнской культуры и не представляет собой генетически модифицированный пенициллин-резистентный штамм, а выжившие клетки являются его фенотипической разновидностью. Выявленная генерация клеток под влиянием антибиотикотерапии временно изменила свои биологические свойства, свела к минимуму метаболическую и репродуктивную активность для последующего возрождения погибшей популяции. Удивительная устойчивость этих клеток к антибиотикам не стала наследуемым признаком, а природа этого феномена имеет совершенно иные механизмы, чем природная резистентность бактерий к антимикробным препаратам, опосредуемая генетическими мутациями.

Спустя 2 года J.W. Bigger (1944) получил аналогичные результаты и назвал выжившую субпопуляцию бактерий клетками-персисторами («неделяющиеся, бездействующие клетки») [2]. Однако на волне эйфории от успехов применения антибиотиков в 1940–1970-е гг. работы G.L. Hobby и J.W. Bigger не получили должного внимания, и дальнейшие исследования клеточной персистенции прекратились [3, 4]. Кроме того, клетки-персисторы не культивировались на обычных питательных средах и не проявляли метаболическую активность, что затрудняло их выявление и изучение традиционными микробиологическими методами [4, 5] (рис. 1).

На рубеже XX и XXI вв. появление устойчивых к антимикробным препаратам штаммов патогенных бактерий стало серьезной угрозой глобальному здравоохранению, и с трибуны ВОЗ заговорили о грядущем закате эры антибиотиков. В последние десятилетия на фоне роста инфекционной патологии заболевания все чаще стали принимать затяжной или хронический характер и ассоциироваться с условно-патогенными микроорганизмами и госпитальным заражением пациентов [6].

В сложившихся условиях поиск и создание новых антибиотиков становится все более сложным, все менее перспективным и экономически нерентабельным процессом. А для эффективной борьбы с резистентностью бактерий требуются разработка инновационных антимикробных стратегий, новые мишени и решения. Одним из перспективных под-



**Рис. 1.** Субпопуляция персистерных клеток бактерий является устойчивой к антибиотикам.

После гибели большей части вегетативных бактерий и окончания антибиотикотерапии клетки-персистеры восстанавливают популяцию материнской культуры клеток.

**Fig. 1.** A subpopulation of persistent bacteria cells is resistant to antibiotics.

After the death of most vegetative bacteria and the end of antibiotic therapy, persister cells restore the population of maternal cell culture.

ходов является изучение персистенции бактерий. Растущий научный интерес к этому биологическому феномену стал особенно заметен на фоне появления новых сведений о молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе их устойчивости [3, 5, 6].

В этом обзоре рассматриваются современные концепции молекулярно-генетических механизмов персистенции бактерий с акцентом на их клиническом значении для возникновения персистирующих инфекций, обсуждаются инновационные технологии эрадикации устойчивых клеточных форм микроорганизмов.

### Персистенция бактерий

Одними из ключевых признаков жизнеспособности любой прокариотической клетки являются согласованное воспроизведение интрацеллюлярных структур и синтез макромолекул. Однако открытие в середине XX в. феномена персистенции бактериальных клеток и последующее его изучение

позволили расширить представление об адаптационных стратегиях микроорганизмов и механизмах сохранения ими патогенного потенциала [7–10].

Впоследствии было показано, что большинство бактериальных культур, находясь в стационарной фазе роста и благоприятных условиях, имеет небольшую (1–3%) неделяющуюся фенотипическую субпопуляцию персистеров, биологической функцией которых является сохранение популяции в случае внезапно наступивших изменений условий среды обитания [5, 6, 11].

Помимо постоянного присутствия этой клеточной субпопуляции в любой культуре прокариот, увеличение их численности происходит в ответ на возникающую угрозу любых неблагоприятных факторов среды обитания. Кроме уже обсуждавшегося влияния антимикробных средств, это могут быть дефицит (отсутствие) питательных веществ, оксидативный стресс, гипоксия, изменение температуры [6, 9, 10].

В зависимости от условий существования, фазы роста и условий среды обитания микробной популяции происходит постоянная трансформация вегетативных форм в генерацию клеток-персистеров и обратно [3, 4]. При этом численность бездействующей популяции может значительно варьировать, а в условиях дефицита (отсутствия) питательных веществ достигать почти тотального перехода всей популяции в состояние персистенции [12]. Биологическое значение присутствия и образования этих анабиотических клеточных генераций заключается в сохранении популяций после длительного и экстремального по величине воздействия неблагоприятных факторов [7, 8, 13].

В процессе жизнедеятельности вегетативные (активные) бактериальные клетки популяций могут трансформироваться в персистентный фенотип и обратно, при этом скорость этих реверсий ориентирована на фазы роста и условия среды обитания [3, 7, 8].

На основании полученных данных был сделан вывод о более широкой биологической функции клеток-персистеров и связи индукции генерации этой бактериальной субпопуляции не только с влиянием антибиотиков. Например, феномен персистенции бактерий в последние годы все чаще рассматривается в качестве универсальной адаптационной («оборонительной») стратегии микроорганизмов в ответ на конкурентный стресс, являющейся результатом межвидовых взаимодействий и имеющей большое значение для сохранения популяции в сообществе с доминантными видами [14–16].

За десятилетия изучения феномена персистенции бактерий установлено, что клетки-персистеры, в отличие от вегетативных клеточных форм, находятся в состоянии метаболического и репродуктивного покоя. Это позволяет им уклоняться от врожденных механизмов иммунной защиты организма-хозяина и сохранять жизнеспособность после воздействия экстремальных факторов среды обитания, в том числе влияния антибиотиков, многие из которых активны по отношению только к делющимся клеткам [8, 13, 15]. Механизмы большинства из них нацелены на ингибирование ключевых внутриклеточных звеньев метаболизма и репродукции: синтеза белков, клеточной стенки и репликации нуклеиновых кислот [17].

Безусловно, наличие в организме неактивных устойчивых клеточных форм патогенных бактерий в значительной степени способствует возникновению персистирующих инфекций и их возможных последствий: увеличению заболеваемости и смертности от самой инфекции, а также повышенному риску ее распространения [13, 14, 18]. Наличие в организме этой бездействующей генерации бактерий снижает эффективность антибиотического лечения, что опосредовано не генетической лекар-

ственной устойчивостью микроорганизма, а резистентностью фенотипического варианта изогенной популяции — клеток-персистеров. Таким образом, в отличие от генотипической резистентности микроорганизмов, устойчивость при персистенции бактерий временна и обратима. Различие принципиальное, поскольку персистеры не чувствительны к любым антибиотикам, а для их эрадикации необходима разработка принципиально новых антимикробных стратегий. Поэтому лечение персистирующих инфекций затруднено и, как правило, связано с необходимостью продолжительных или многократных курсов антимикробной терапии [3, 4, 17, 18].

В последние десятилетия установлено, что персистенция является универсальным явлением. Она обнаружена не только у бактерий и архей, но и у вирусов [19], грибов [20], одноклеточных водорослей [21], раковых клеток [22], семян растений [23], что предполагает наличие общих закономерностей и общебиологическое значение этого феномена для выживания систем в различных стрессовых условиях [5, 7, 24].

Формирование в бактериальной культуре генерации клеток-персистеров хорошо объясняет инновационная парадигма фенотипической гетерогенности популяций, являющейся чаще всего следствием спонтанного механизма молекулярного стохастического переключения фенотипа во время экспоненциальной или стационарной фазы роста микроорганизмов [5, 11, 12]. Однако формирование персистеров может быть опосредовано и адаптивными механизмами в ответ на экстремальные условия среды обитания, а также в начале стационарной фазы при нутриентном истощении [5, 13, 15]. Это приводит к появлению фенотипической гетерогенности, которая повышает жизнеспособность бактериальной популяции [14, 25–27].

Феномен персистенции бактерий согласуется с гипотезой континуума клеточного покоя. Согласно этой гипотезе, образование клеток-персистеров наряду с формированием жизнеспособных, но некультивируемых (*viable but non-culturable*, VBNC) клеточных форм бактерий рассматривается в качестве одного из наиболее распространенных способов выживания бактерий в неблагоприятных условиях [28–30].

Сходство обстоятельств формирования и морфологических признаков указывает на достаточно близкое родство этих устойчивых клеточных форм, однако есть экспериментальные данные, показывающие, что VBNC является формой более глубокого покоя. Для восстановления параметров роста этих жизнеспособных, но некультивируемых бактерий после прекращения действия стрессора необходимо больше времени (до суток и более), тогда как клетки-персистеры рекультивируются после завер-

шения антибиотикотерапии на плотных питательных средах в течение нескольких часов [28, 30, 31]. Это обстоятельство позволило некоторым авторам предположить, что клетки-персистеры являются переходной формой трансформации в VBNC-состояние [12].

Некоторые авторы [28–30] ставят знак равенства между клетками-персистерами и VBNC, объединяя их на основании сходства обстоятельств формирования, морфологических, физиологических признаков, а также молекулярно-генетических механизмов возникновения.

### Молекулярно-генетические механизмы персистенции бактерий

Еще в 1950-е гг. исследователи задавались вопросом о функционировании отдельных клеток микроорганизмов. Этот интерес был основан на интуитивном понимании того, что физиология отдельных клеток в изогенных популяциях бактерий может отличаться от большинства других. Несмотря на то что бактериальная персистенция известна уже около 80 лет, генерация клеток-персистеров изучена мало. Технические проблемы с получением лабораторной модели dormantных клеток и невозможность их культивирования на обычных питательных средах дополнялись отсутствием чувствительных аналитических инструментов для изучения персистенции бактерий [11, 13, 28].

Значительные достижения молекулярной биологии и генетики в начале XXI в. расширили представления о молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе персистенции бактерий. С появлением и развитием концепции микробиологии отдельных клеток (*single-cell microbiology*) были разработаны новые аналитические инструменты и методы одноклеточной изоляции (раман-спектрометрия, микрофлюидика, проточная цитометрия, компартиментализация) [32–34]. Появилась возможность выделять и выращивать ранее некультивируемые одиночные клетки для проведения оценки жизнеспособности, а также мониторинга физиологии и функций отдельных клеток, что было невозможно 10–15 лет назад [35–39].

В зависимости от целей и задач исследований эти методы сочетаются с секвенированием РНК (*scRNA-seq*), а также с генетическим, макромолекулярным, пространственным, протеомным профилированием одиночных клеток [35–37]. С помощью этих методов установлено, что в регуляции образования клеток-персистеров принимают участие различные независимые молекулярные механизмы [40–43].

Каждый из этих механизмов приводит к формированию в популяции небольшой генерации дремлющих клеток. Например, реагируя на различные внешние раздражители, бактерии используют

сенсорные системы, трансформирующие внешние сигналы в модуляцию внутриклеточного содержания вторичных мессенджеров-индукторов. Среди них внутриклеточные нуклеотидные молекулы-алармоны (p)ppGpp (гуанозин пентафосфат и гуанозин тетрафосфат). Они играют ключевую роль в ответе бактериальной клетки на внешние раздражители, выполняя функцию одного из основных медиаторов «строгого контроля» и регулятора активности метаболизма [42–45]. В свою очередь, концентрация этих молекул в клетке регулируется ppGpp-синтазами, активность которых зависит от содержания аминокислот, при непосредственном участии суперсемейства гормонов RelA/SpoT, синтезирующих ppGpp [42, 44, 46].

Эти молекулы опосредуют формирование клеток-персистеров путем изменения активности ряда ферментов, в первую очередь ДНК-праймазы, лизиндекарбоксилазы, РНК-полимеразы и др., а также в качестве сигнальных молекул регулируют скорость репликации бактерий и их метаболическую активность [44, 47, 48]. Кроме того, вторичный мессенджер (p)ppGpp был идентифицирован как регулятор активности многочисленных генетических оперонов, кодирующих токсин-антитоксिनные системы (ТАС) прокариот, открытых в конце XX в. [49]. Их изучение позволило установить широкую распространенность у бактерий этих важнейших оперонов [28, 50–52]. Последующее установление связи ТАС с формированием фенотипа бактериальной персистенции стало мощным стимулом изучения этих генетических локусов, в значительной степени опосредующих устойчивость прокариот к антибактериальным препаратам [42, 43, 48].

За последние десятилетия выявлено, что генетические опероны ТАС состоят из двух промоторов, расположенных по соседству на хромосомах и плаزمиде. Они регулируют синтез стабильного токсина и нестабильного антитоксина, чувствительного к клеточным протеазам. В нормальных условиях эти системы представляют собой нетоксичный комплекс, в котором антитоксин блокирует комплементарный токсин путем прямого связывания мРНК [42, 48].

Увеличение уровня (p)ppGpp вызывает снижение активности экзополифосфатаз и повышение внутриклеточного содержания полифосфата. Эти высокомолекулярные полимеры при участии Lon-протеазы опосредуют деградацию антитоксина, деполаризацию клеточных мембран, а также значительное ингибирование активности метаболизма и угнетение репродукции [46, 47, 51] (рис. 2).

При наступлении экстремальных условий обитания происходит деградация антитоксина гомолигомерной АТФ-зависимой Lon(La)-протеазой и двухкомпонентными протеазными системами

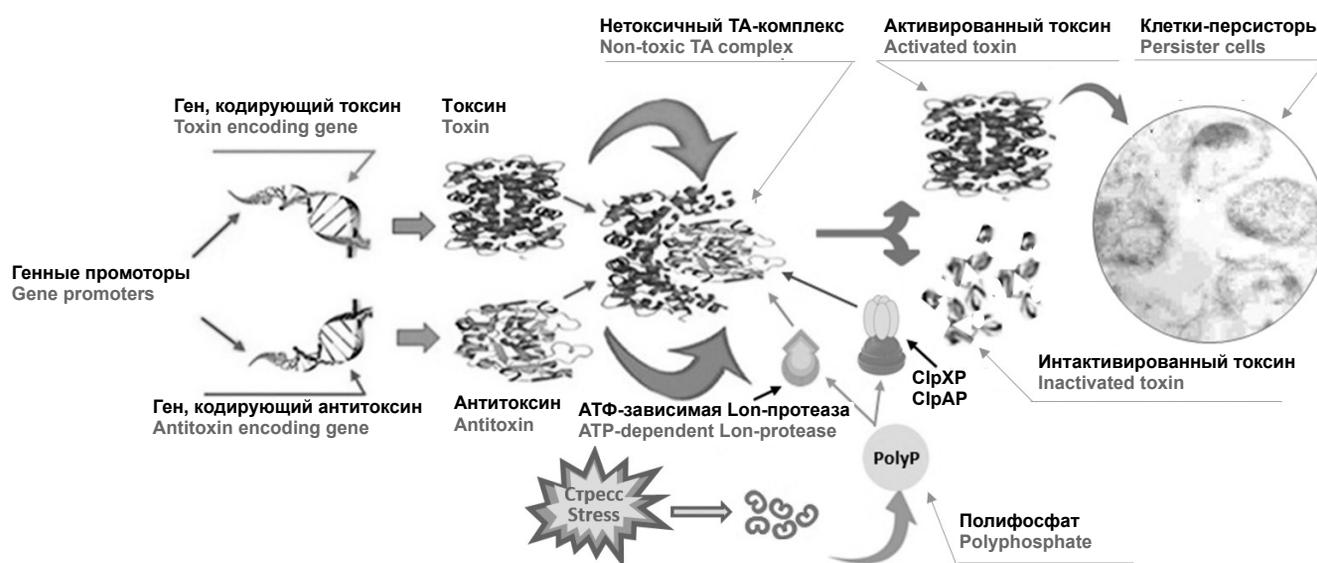


Рис. 2. Молекулярно-генетические механизмы формирования фенотипа персистенции у бактерий.

Fig. 2. Molecular genetic mechanisms of the formation of the phenotype of persistence in bacteria.

ClpXP и ClpAP, в результате чего освобождается и активируется токсин. Клеточной мишенью активного токсина становятся внутриклеточные ферменты, ингибирование которых опосредует значительное замедление скорости синтеза белка и клеточной стенки, угнетение метаболизма и репликации ДНК бактерий, что приводит к частичной или полной их устойчивости к этиотропной антибактериальной терапии [43, 50].

Так, активация токсина RelE (локус *RelE*), согласно данным [51], повышает устойчивость *E. coli* к ванкомицину в 10 тыс. раз, а высвобождение токсина YafQ (локус TA *DinJ-YafQ*) снижает чувствительность этой же бактерии к цефалоспориновому антибиотику I поколения, цефазолину, в 2400 раз. При этом важно, что гены TAC, расположенные на плазмидах, способны в биопленках переноситься горизонтально к другим патологическим микроорганизмам, придавая им устойчивость к антибиотикам [27, 48, 51].

К настоящему времени установлено существование 6 типов модулей TAC, которые отличаются строением антитоксинов и характером их взаимодействия с комплементарными токсинами [42, 43, 48]. Первоначально ведущая роль в формировании клеточной персистенции отводилась наиболее изученному модулю TAC II типа и его локусу *hipBA*, содержащему первый открытый у *E. coli* ген устойчивости бактерий *hipA*. В этом типе TAC токсин и антитоксин являются протеинами [42, 46, 51]. Однако в дальнейшем показано участие и других типов TAC в формировании устойчивости бактерий [27, 52–54].

В различных типах TAC используются разные механизмы активации токсина, что в итоге приводит к его высвобождению, замедлению метаболиз-

ма и остановке репродуктивной активности, образованию клеток-персисторов. Последующие исследования показали, что и другие типы модулей TAC вызывают сверхэкспрессию токсинов в dormantных клетках дикого штамма *E. coli* (локусы *tisB-istR*, *hokB-sokB* и др.) [43, 46, 47]. Чрезмерная активация токсинов приводит к разрушению и гибели клеток, а этот механизм предлагается в качестве одной из перспективных стратегий, направленных на борьбу с персистенцией бактерий и их фенотипической резистентностью к антибиотикам.

### Перспективные стратегии борьбы с персистенцией бактерий

Возрастающее клиническое значение персистенции бактерий делает все более актуальным поиск принципиально иных стратегий, направленных на борьбу с dormantными формами патогенных микроорганизмов, и альтернативных клеточных мишеней (таблица).

С учетом устойчивости клеток-персисторов к традиционным антибиотикам для их эрадикации было предложено использовать разрешенные к применению противораковые препараты цисплатин и митомицин С (образуют внутрипочечные сшивки ДНК). Использование этих препаратов против устойчивых клеток клинических штаммов *E. coli* O157:H7 (EHEC), *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* показало высокую эффективность и перспективность для лечения хронических инфекций [55].

Открытие ключевой роли токсин-антитоксिनных модулей в физиологии бактерий, а также (p)ppGpp в формировании генерации устойчивых к антибиотикам клеточных форм естественным образом связало одно из направлений научного поиска меха-

Современные стратегии, направленные на ингибирование бактериальной персистенции  
 Modern strategies aimed at inhibiting bacterial persistence

Мишень Target	Механизм Mechanism	Модель Model	Ссылка Link
Клетки-персисторы Persister cells	ДНК-сшивающие агенты проникают в клетки-персисторы и убивают их (цисплатин и митомицин С) DNA cross-linking agents penetrate and kill persister cells (cisplatin and mitomycin C)	<i>E. coli</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i>	55
Блокирование синтеза (p)ppGpp Block synthesis (p)ppGpp	Связывание каталитических домены RelA/SpoT синтетическим аналогом Relacin The binding of the catalytic domains RelA/SpoT synthetic analog Relacin	<i>M. tuberculosis</i>	47
Литическая протеаза ClpP Lytic protease ClpP	Активация (модуляция активности) литической протеазы ClpP Activation (modulation of activity) of the lytic protease ClpP	<i>Staphylococcus aureus</i>	56
Токсин-антитоксиновые модули типа II Type II toxin antitoxin modules	Ингибирование образования комплекса ТАС, прямая активация токсина после введения биомолекул для связывания антитоксина Inhibition of the formation of the TAS complex, direct activation of the toxin after the introduction of biomolecules for antitoxin binding	<i>E. coli</i>	52
	Активация токсина mazE пептидными олигомерами нуклеиновых кислот Activation of mazE toxin by nucleic acid peptide oligomers	<i>Neisseria meningitidis</i>	53
	Фармацевтическое ингибирование трансляции антитоксинов антисмысловой РНК Pharmaceutical inhibition of antisense RNA antitoxin translation	<i>E. coli</i>	51
	Искусственная активация ТАС антисмысловыми пептидными олигомерами нуклеиновых кислот Artificial TAS activation by antisense peptide nucleic acid oligomers	<i>E. coli</i>	57

низмов ингибирования образования клеток-персисторов с этими алармическими системами [43, 47, 48]. Например, К. Syal с коллегами [47] показали, что блокирование синтеза (p)ppGpp опосредуется связыванием активности каталитических доменов синтетаз/гидролаз RelA/SpoT этого мессенджера у *Mycobacterium tuberculosis* синтетическим аналогом Relacin.

В.Р. Conlon и соавт. [56] пришли к выводу, что ацилдепептидный антибиотик (ADEP4), модулируя активность протеазы ClpP, убивает персистирующие клетки, разлагая более 400 внутриклеточных белков.

В последние годы как перспективная инновационная стратегия было предложено использование ТАС в качестве антибактериальных внутриклеточных мишеней [52, 53]. Научный интерес к ТАС в качестве антибактериальных стратегий обусловлен, с одной стороны, их широким распространением среди бактериальных геномов, а с другой — отсутствием в клетках эукариот, в частности ТАС не имеют аналогов у человека. Основные механизмы использования ТАС связаны с блокированием образования (деградацией) антитоксина, что приводит к разрушению комплементарным токсином дочерней клетки («постсегрегационное убийство»). Другая группа стратегий связана с искусственной активацией токсина или ингибированием образования ТАС [46, 57].

## Заключение

Об окончательном раскрытии молекулярных механизмов персистенции бактерий пока говорить преждевременно. Их изучение находится в активной стадии, и возможно, что в скором времени появятся новые противомикробные стратегии, направленные на эрадикацию клеток-персисторов, которые расширят и дополнят существующие схемы традиционной антибиотикотерапии.

Однако рассчитывать на легкую борьбу с бактериальной персистенцией, по-видимому, не стоит. Механизмы персистенции слишком избыточны и специфичны для каждого вида микроорганизмов, а единый и универсальный метод эрадикации устойчивых клеток пока не просматривается.

На сегодняшний день наиболее успешные результаты были получены при использовании различных метаболитов (например, маннита, глюкозы, кардиолипина и др.) для рекультивирования клеток-персисторов с последующей аминогликозидопосредованной эрадикацией [39, 40, 43].

Актуальность разработки методов борьбы с бактериальной персистенцией обоснована с позиции научной и практической значимости проблемы и экономической целесообразности. Лечение персистирующих инфекций, таких как туберкулез, требует длительных курсов приема значительных доз антибиотиков. Создание комбинированных схем лечения, направленных на эрадикацию инфекцион-

ного патогена и его устойчивых клеточных субпопуляций, позволит оптимизировать схемы лечения, снизить его стоимость и повысить эффективность.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hobby G.L., Meyer K., Chaffee E. Observations on the mechanism of action of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY.* 1942; 50(2): 281-5. DOI: <http://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
2. Bigger J.W. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet.* 1944; 244(6320): 497-500. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)74210-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)74210-3)
3. van den Bergh B., Michiels J.E., Fauvart M., Michiels J. Should we develop screens for multi-drug antibiotic tolerance? *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2016; 14(7): 613-16. DOI: <http://doi.org/10.1080/14787210.2016.1194754>
4. Rehab Mahmoud abd El-Baky. The future challenges facing antimicrobial therapy: resistance and persistence. *Am. J. Microbiol. Res.* 2016; 4(1): 1-15. DOI: <http://doi.org/10.12691/ajmr-4-1-1>
5. Balaban N.Q., Merrin J., Chait R., Kowalik L., Leibler S. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science.* 2004; 305(5690): 1622-5. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1099390>
6. Lewis K. Persister cells. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010; 64: 357-72. DOI: <http://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134306>
7. van Teeseling M.C.F., de Pedro M.A., Cava F. Determinants of bacterial morphology: from fundamentals to possibilities for antimicrobial targeting. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1264. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01264>
8. Kysela D.T., Randich A.M., Caccamo P.D., Brun Y.V. Diversity takes shape: understanding the mechanistic and adaptive basis of bacterial morphology. *PLoS Biol.* 2016; 14(10): e1002565. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002565>
9. Kawai Y., Mercier R., Errington J. Bacterial cell morphogenesis does not require a preexisting template structure. *Curr. Biol.* 2014; 24(8): 863-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cub.2014.02.053>
10. Harms A., Maisonneuve E., Gerdes K. Mechanisms of bacterial persistence during stress and antibiotic exposure. *Science.* 2016; 354(6318): aaf4268. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.aaf4268>
11. Maisonneuve E., Gerdes K. Molecular mechanisms underlying bacterial persisters. *Cell.* 2014; 157(3): 539-48. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.050>
12. Orman M.A., Brynildsen M.P. Inhibition of stationary phase respiration impairs persister formation in *E. coli*. *Nat. Commun.* 2015; 6: 7983. DOI: <http://doi.org/10.1038/ncomms8983>
13. Randich A.M., Brun Y.V. Molecular mechanisms for the evolution of bacterial morphologies and growth modes. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 580. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00580>
14. Stubbendieck R.M., Straight P.D. Multifaceted interfaces of bacterial competition. *J. Bacteriol.* 2016; 198(16): 2145-55. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00275-16>
15. Gaivão M., Dionisio F., Gjini E. Transmission fitness in co-colonization and the persistence of bacterial pathogens. *Bull. Math. Biol.* 2017; 79(9): 2068-87. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11538-017-0320-3>
16. Dorosky R.J., Pierson L.S., Pierson E.A. *Pseudomonas chlororaphis* produces multiple R-Tailocin particles that broaden the killing spectrum and contribute to persistence in rhizosphere communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 84(18): e01230-18. DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.01230-18>
17. Fisher R.A., Gollan B., Helaine S. Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017; 15(8): 453-64. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.42>
18. Grant S.S., Hung D.T. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence.* 2013; 4(4): 273-83. DOI: <http://doi.org/10.4161/viru.23987>
19. Randall R.E., Griffin D.E. Within host RNA virus persistence: mechanisms and consequences. *Curr. Opin. Virol.* 2017; 23: 35-42. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.03.001>
20. Böhm L., Torsin S., Tint S.H., Eckstein M.T., Ludwig T., Pérez J.C. The yeast form of the fungus *Candida albicans* promotes persistence in the gut of gnotobiotic mice. *PLoS Pathog.* 2017; 13(10): e1006699. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006699>
21. Codony F., Miranda A.M., Mas J. Persistence and proliferation of some unicellular algae in drinking water systems as result of their heterotrophic metabolism: short communication. *Water SA.* 2003; 29(1): 113-6. DOI: <http://doi.org/10.4314/wsa.v29i1.4953>
22. Pearl Mizrahi S., Gefen O., Simon I., Balaban N.Q. Persistence to anti-cancer treatments in the stationary to proliferating transition. *Cell Cycle.* 2016; 15(24): 3442-53. DOI: <http://doi.org/10.1080/15384101.2016.1248006>
23. Long R.L., Gorecki M.J., Renton M., Scott J.K., Colville L., Goggin D.E., et al. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2015; 90(1): 31-59. DOI: <http://doi.org/10.1111/brv.12095>
24. Yafremava L.S., Wielgos M., Thomas S., Nasir A., Wang M., Mittenenthal J.E., et al. A general framework of persistence strategies for biological systems helps explain domains of life. *Front. Genet.* 2013; 4: 16. DOI: <http://doi.org/10.3389/fgene.2013.00016>
25. van Boxtel C., van Heerden J.H., Nordholt N., Schmidt P., Bruggeman F.J. Taking chances and making mistakes: non-genetic phenotypic heterogeneity and its consequences for surviving in dynamic environments. *J. R. Soc. Interface.* 2017; 14(132): 20170141. DOI: <http://doi.org/10.1098/rsif.2017.0141>
26. Smith S.E. Organisms as persisters. *Theor. Pract. Biol.* 2017; 9(14). DOI: <http://doi.org/10.3998/ptb.6959004.0009.014>
27. Pu Y., Ke Y., Bai F. Active efflux in dormant bacterial cells — new insights into antibiotic persistence. *Drug. Resist. Updat.* 2017; 30: 7-14. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.drup.2016.11.002>
28. Kim J.S., Wood T.K. Tolerant, growing cells from nutrient shifts are not persister cells. *mBio.* 2017; 8(2): e00354-17. DOI: <http://doi.org/10.1128/mBio.00354-1718>. Available at: <http://mbio.asm.org/content/8/2/e00354-17.long>
29. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but non-culturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immun.* 2015; 83(11): 4194-03. DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00404-15>
30. Ayrapetyan M., Williams T., Oliver J.D. Relationship between the viable but nonculturable state and antibiotic persister cells. *J. Bacteriol.* 2018; 200(20): e00249-18. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00249-18>
31. Amato S.M., Fazen C.H., Henry T.C., Mok W.W., Orman M.A., Sandvik E.L., et al. The role of metabolism in bacterial persistence. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 70. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00070>
32. Ishii S., Tago K., Senoo K. Single-cell analysis and isolation for microbiology and biotechnology: Methods and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010; 86(5): 1281-92. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-010-2524-4>
33. Li M., Xu J., Romero-Gonzalez M., Banwart S.A., Huang W.E. Single cell Raman spectroscopy for cell sorting and imaging. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2012; 23(1): 56-63. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.11.019>
34. Mazutis L., Gilbert J., Ung W.L., Weitz D.A., Griffiths A.D., Heyman J.A. Single-cell analysis and sorting using droplet-based microfluidics. *Nat. Protoc.* 2013; 8(5): 870-91. DOI: <http://doi.org/10.1038/nprot.2013.046>
35. Stuart T., Satija R. Integrative single-cell analysis. *Nat. Rev. Genet.* 2019; 20(5): 257-72. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41576-019-0093-7>

36. Peterson V.M., Zhang K.X., Kumar N., Wong J., Li L., Wilson D.C., Moore R., et al. Multiplexed quantification of proteins and transcripts in single cells. *Nat. Biotechnol.* 2017; 35(10): 936-9. DOI: <http://doi.org/10.1038/nbt.3973>
37. Ramani V., Deng X., Qiu R., Gunderson K.L., Steemers F.J., Disteche C.M., et al. Massively multiplex single-cell Hi-C. *Nat. Methods.* 2017; 14(3): 263-6. DOI: <http://doi.org/10.1038/nmeth.4155>
38. Tóth E.N., Lohith A., Mondal M., Guo J., Fukamizu A., Pourmand N. Single-cell nanobiopsy reveals compartmentalization of mRNAs within neuronal cells. *J. Biol. Chem.* 2018; 293(13): 4940-51. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M117.800763>
39. Hong-Geller E., Micheva-Viteva S.N. Targeting bacterial persistence to develop therapeutics against infectious disease. DOI: <http://doi.org/10.5772/59404> Available at: <https://www.intechopen.com/books/drug-discovery-and-development-from-molecules-to-medicine/targeting-bacterial-persistence-to-develop-therapeutics-against-infectious-disease>
40. Lin J.M., eds. *Microfluidics for Single-Cell Analysis*. Beijing, China: Springer Singapore; 2019. DOI: <http://doi.org/10.1007/978-981-32-9729-6>
41. Michiels J.E., van den Bergh B., Verstraeten N., Michiels J. Molecular mechanisms and clinical implications of bacterial persistence. *Drug. Resist. Updat.* 2016; 29: 76-89. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.drup.2016.10.002>
42. Tian C., Semsey S., Mitarai N. Synchronized switching of multiple toxin-antitoxin modules by (p)ppGpp fluctuation. *Nucleic Acids. Res.* 2017; 45(14): 8180-9. DOI: <http://doi.org/10.1093/nar/gkx552>
43. Svenningsen M.S., Veress A., Harms A., Mitarai N., Semsey S. Birth and resuscitation of (p)ppGpp induced antibiotic tolerant persister cells. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 6056. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-019-42403-7>
44. Wood T.K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(3): 476-83. DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25721>
45. Maisonneuve E., Castro-Camargo M., Gerdes K. (p)ppGpp controls bacterial persistence by stochastic induction of toxin-antitoxin activity. *Cell.* 2013; 154(5): 1140-50. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.048>
46. Manav M.C., Beljantseva J., Bojer M.S., Tenson T., Ingmer H., Haurlyuk V., et al. Structural basis for (p)ppGpp synthesis by the *Staphylococcus aureus* small alarmone synthetase RelP. *J. Biol. Chem.* 2018; 293(9): 3254-64. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.RA117.001374>
47. Syal K., Flentie K., Bhardwaj N., Maiti K., Jayaraman N., Stallings C.L., et al. Synthetic (p)ppGpp analogue is an inhibitor of stringent response in mycobacteria. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2017; 61(6): e00443-17. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.00443-17>
48. Haurlyuk V., Atkinson G.C., Murakami K.S., Tenson T., Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(5): 298-09. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro3448>
49. Ogura T., Hiraga S. Mini-F plasmid genes that couples host cell division to plasmid proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983; 80(15): 4784-8. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.80.15.4784>
50. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12(4): 208-14. DOI: <http://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
51. van Melderen L. Toxin-antitoxin systems: why so many, what for? *Curr. Opin. Microbiol.* 2010; 13(6): 781-5. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mib.2010.10.006>
52. Lee K.Y., Lee B.J. Structure, biology, and therapeutic application of toxin-antitoxin systems in pathogenic bacteria. *Toxins.* 2016; 8(10): 305. DOI: <http://doi.org/10.3390/toxins8100305>
53. Maleki A., Ghafourian S., Pakzad I., Badakhsh B., Sadeghifard N. MazE antitoxin of toxin-antitoxin system and fbpA as reliable targets to eradication of *Neisseria meningitidis*. *Curr. Pharm. Des.* 2018; 24(11): 1204-10. DOI: <http://doi.org/10.2174/1381612824666171213094730>
54. Cui P., Xu T., Zhang W.H., Zhang Y. Molecular mechanisms of bacterial persistence and phenotypic antibiotic resistance. *Yi Chuan.* 2016; 38(10): 859-71. DOI: <http://doi.org/10.16288/j.ycz.16-213>
55. Chowdhury N., Wood T.L., Martínez-Vázquez M., García-Contreras R., Wood T.K. DNA-crosslinker cisplatin eradicates bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(9): 1984-92. DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25963>
56. Conlon B.P., Nakayasu E.S., Fleck L.E., LaFleur M.D., Isabel-la V.M., Coleman K., et al. Activated ClpP kills persisters and eradicates a chronic biofilm infection. *Nature.* 2013; 503(7476): 365-70. DOI: <http://doi.org/10.1038/nature12790>
57. Równicki M., Pieńko T., Czarniecki J., Kolanowska M., Bartosik D., Trylska J. Artificial activation of *Escherichia coli* mazEF and hipBA toxin-antitoxin systems by antisense peptide nucleic acids as an antibacterial strategy. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2870. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02870>

**Информация об авторах:**

Андрюков Борис Георгиевич<sup>✉</sup> — д.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», Владивосток, Россия; профессор Департамента медицинской биохимии и биофизики Школы биомедицины ФГБОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: [andrukov\\_bg@mail.ru](mailto:andrukov_bg@mail.ru)

Ляпун Ирина Николаевна — к.б.н., н.с. лаб. молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: [irina-lyapun@list.ru](mailto:irina-lyapun@list.ru)

**Участие авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Information about the authors:**

Andryukov Boris Georgievich<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia; Prof., Department of Medical Biochemistry and Biophysics, School of Biomedicine, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: [andrukov\\_bg@mail.ru](mailto:andrukov_bg@mail.ru)

Lyapun Irina Nikolaevna — PhD (Med.), researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: [irina-lyapun@list.ru](mailto:irina-lyapun@list.ru)

**Contribution:** the authors contributed equally to this article.

## РЕЦЕНЗИЯ

© Жирнов О.П., 2020



## Рецензия на книгу академика РАН Ф.И. Ершова «История вирусологии от Д.И. Ивановского до наших дней»

(Москва: ГОЭТАР-Медиа, 2020. DOI: 10.33029/9704-5354-4-ISV-2020-1-288)

**Жирнов О.П.**

Инновационный центр «Сколково», 121665, Москва, Россия;  
Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», 123098, Россия, Москва



*Памяти великого русского ученого —  
Дмитрия Иосифовича Ивановского  
посвящается*

20 июня 2020 года исполняется 100 лет со дня смерти великого русского ученого — биолога Дмитрия Иосифовича Ивановского. Д.И. Ивановский открыл новую форму биологической жизни — царство вирусов, а его труды положили начало новой науке — вирусологии<sup>1</sup>. Публикация статьи Д.И. Ивановского «О двух болезнях табака»<sup>2</sup> в 1992 г. признана в мировой науке датой открытия вирусов<sup>3</sup>.

Представляется символичным, что выход в свет книги академика РАН, известного российского

ученого — вирусолога и иммунолога Феликса Ивановича Ершова «История вирусологии от Д.И. Ивановского до наших дней» совпал с мемориальной датой в жизни Д.И. Ивановского. В монографии автор обобщил историю становления и развития отечественной вирусологической науки, ее подвиги и главные достижения российских вирусологов на этом историческом пути. Генеральная линия книги, на мой взгляд, очень точная и состоит в том, что идеи, высказанные Д.И. Ивановским, не угасли на его родине — в России, а получили мощное развитие, и Россия стала одним из лидеров вирусологической науки в мире.

В книге впервые для отечественной научной истории вирусологии автор выделил ее периоды и суммировал вклад российских ученых на этом пути, охватывающем уже три столетия. Важным представляется и то, что оценку вклада российских ученых сделал Ф.И. Ершов — выдающийся ученый, обладающий обширными вирусологическими и иммунологическими знаниями и всесторонней научной эрудицией, участник и очевидец многих из событий, которые легли в основу книги. Для читателей будет интересным познакомиться как с научным содержанием книги, так и с фактами из личной жизни больших российских ученых, среди которых Л.А. Зильбер, М.П. Чумаков, А.А. Смородинцев, В.Д. Соловьев, В.М. Жданов.

Книга Ф.И. Ершова «История вирусологии от Д.И. Ивановского до наших дней» будет интересна и познавательна не только для маститых ученых, но и для молодых, начинающих свой путь в науке исследователей, а также аспирантов, студентов и школьников. Несомненно, вышедшую в свет книгу следует рекомендовать для включения в программу общеобразовательной школы и высших учебных заведений.

<sup>1</sup> Жирнов О.П., Георгиев Г.П. Д.И. Ивановский — первооткрыватель вирусов как новой формы биологической жизни. *Вестник РАМН*. 2017; 72(1): 84–6. DOI: 10.15690/vramn810.

<sup>2</sup> Ivanovsky D. Über die Mosaikkrankheit der Tabakspflanze. *Bulletin Scientifique publié par l'Académie Impériale des Sciences de Saint-Petersbourg*. Nouvelle Serie III. 1892; 35: 67–70.

<sup>3</sup> Lustig A., Levine J. Minireview: one hundred years of Virology. *J. Virol.* 1992; 66: 629–31;

Lvov D.K. Century of Virology. In: *Concepts of Virology: From Ivanovsky to present*. B.W.J. Mahy, D.K. Lvov. (eds.). Switzerland: Harwood Academic Publisher GmbH, 1993: 3–13.

## ЮБИЛЕЙ

## К 95-летию профессора Костюковой Натальи Николаевны: 73 года служения науке



**6 июля 2020 года исполняется 95 лет со дня рождения доктора медицинских наук, профессора, Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, одного из ведущих специалистов в области медицинской микробиологии и эпидемиологии Костюковой Натальи Николаевны.**

Н.Н. Костюкова родилась в 1925 г. в городе Пушкин Ленинградской области в семье русского писателя и переводчика Николая Корнеевича Чуковского. Закончив 1-й Московский медицинский институт с отличием, избрала путь ученого и посвятила свою жизнь служению медицинской науке. В 1947 г. она поступила в аспирантуру Московского НИИ им. И.И. Мечникова по специальности «Микробиология», после чего защитила кандидатскую диссертацию «Микрофлора гематогенных остеомиелитов». Её трудовая деятельность продолжилась на кафедре микробиологии Ивановского государственного медицинского института под руководством И.Г. Акимова. В 1959–1961 гг. Н.Н. Костюкова трудилась в Московском НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова под руководством М.И. Хазанова, а затем стала старшим научным сотрудником лаборатории общей эпидемиологии НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР. На этом этапе научного становления Н.Н. Костюкова сотрудничала с блестящим исследователем-эпидемиологом Л.А. Фаворовой. Совместная работа двух незаурядных творческих личностей способствовала формированию эпидемиологического мышления, реализованного в обобщающих публикациях, например, «Уроки дифтерии», (1999), «Эпидемический процесс гонококковой инфекции — анализ и современные тенденции» (2012) и других обзорах о современных менингококковых вакцинах (2016), о дифтерийном бактерионосительстве (2018) и т.п.

В 1972 г. Н.Н. Костюкова защитила докторскую диссертацию «Дифтерийное бактерионосительство (микробиологическое и иммунологическое исследование)».

С 1976 по 1992 г. Костюкова Н.Н. — руководитель лаборатории этиологии и эпидемиологии острых менингитов в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН. Существенным вкладом Натальи Николаевны в отечественную науку явилась расшифровка этиологической структуры острых гнойных менингитов у детей, в том числе

новорожденных, в результате чего был значительно расширен спектр возможных возбудителей этих заболеваний в нашей стране. В зоне строительства Байкало-Амурской магистрали ею были проведены широкомасштабные исследования по выявлению менингококковой инфекции. Практическим результатом научно-исследовательской работы явилась блестяще проведенная под ее руководством вакцинация детей, впервые примененная в СССР, для остановки надвигающейся эпидемии менингококковой инфекции в зоне строительства БАМ и в Республике Тува. Профессор Н.Н. Костюкова впервые доказала отсутствие изменений токсигенности возбудителя дифтерии в условиях массовой иммунизации детского населения. Н.Н. Костюкова разработала и усовершенствовала ряд методов бактериологической и серологической диагностики менингококковой и дифтерийной инфекций, в том числе по выявлению бактерионосителей.

В настоящее время Н.Н. Костюкова — ведущий научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Ей принадлежит свыше 250 научных работ, в том числе 2 монографии. Под ее руководством защищена одна докторская и 19 кандидатских диссертаций. Наталья Николаевна много сил и внимания уделяет воспитанию научных кадров. Ее лекции, доклады всегда отличаются четкостью мысли, глубоким содержанием и артистизмом.

В трудные 1990-е годы Н.Н. Костюкова была Главным ученым секретарем Всероссийского научного общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНПОЭМП). В знак признания заслуг в области профилактической медицины за значительный вклад в деятельность Общества Н.Н. Костюкова отмечена Дипломом Почетного члена ВНПОЭМП.

Н.Н. Костюкова награждена медалями «Ветеран труда» (1983), «За строительство Байкало-Амурской магистрали» (1986), «В память 850-летия Москвы» (1997), «За заслуги перед отечественным здравоохранением» (2015), имеет значок «Отличник здравоохранения».

Широкий кругозор и высокая эрудиция в сочетании с огромной творческой активностью и трудолюбием позволяют проф. Н.Н. Костюковой и сегодня оставаться признанным лидером и авторитетом в науке не только в нашей стране, но и за её пределами.

*Редакция «Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», коллеги, ученики поздравляют Наталью Николаевну с днем рождения, желают ей здоровья и дальнейших творческих успехов.*

---

## НЕКРОЛОГ

---

### Памяти Валентины Борисовны Гервазиевой



18 мая 2020 года ушла из жизни Валентина Борисовна Гервазиева доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, замечательный Ученый и Учитель, Человек с неукротимой жадой познания нового, широким научным кругозором и неиссякаемой творческой активностью.

В 1962 году Валентина Борисовна закончила лечебный факультет Черновицкого медицинского института, получив фундаментальные знания, приобрела важнейший опыт врачебной работы. Свой путь в науке Валентина Борисовна начинала в аллергологической лаборатории АМН СССР под руководством основоположника отечественной аллергологии А.Д. Адо. Андрей Дмитриевич оставался примером и Учителем, которого Валентина Борисовна с благодарностью и теплотой вспоминала всю свою жизнь.

В 1968 году Валентина Борисовна защитила кандидатскую диссертацию, в 1984 году — докторскую. В НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова Валентина Борисовна работала более 50 лет. В 1989 году она создала и возглавила лабораторию аллергодиагностики, оставаясь ее бессменным руководителем.

Валентина Борисовна была ведущим специалистом в области аллергологии и иммунологии, возглавляла научное направление НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова по изучению факторов внешней среды, способствующих формированию аллергического фенотипа у детей и созда-

нию технологии получения новых диагностических тест-систем и аллергенных препаратов. Под руководством Валентины Борисовны созданы иммуноферментные системы для диагностики аллергии, аутоиммунитета и оценки эффективности иммунотерапии у больных аллергическими заболеваниями.

Валентна Борисовна — автор более 300 научных работ, опубликованных в ведущих отечественных и зарубежных изданиях. Она создала научную школу аллергологов, работающих в различных регионах России и за рубежом. Под её руководством успешно защищены более 30 докторских и кандидатских диссертаций.

За вклад в развитие медицинской науки и практику здравоохранения Валентина Борисовна Гервазиева награждена знаком «Отличник здравоохранения», медалями «Ветеран труда», «В память 850-летия Москвы», Почетной грамотой Российской академии медицинских наук. За многолетнюю плодотворную деятельность награждена памятными медалями И.И. Мечникова в честь 90-летия и 100-летия НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова.

Обладая уникальной эрудицией, глубокими знаниями, профессиональной, научной интуицией, все свои таланты Валентина Борисовна реализовала в полной мере. Но ей было дано то, что дается немногим, быть примером, Учителем, но главное — оставить глубочайший след в сердцах учеников и всех, кто с ней соприкасался, обращался за помощью и советом.

*Коллеги*