

1

ЯНВАРЬ — ФЕВРАЛЬ

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

Том 100
2023

Ж
М
Э
И

ЖУРНАЛ
МИКРОБИОЛОГИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
ИММУНОБИОЛОГИИ

JOURNAL

OF MICROBIOLOGY
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY

1

JANUARY — FEBRUARY

VOLUME 100
2023

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

ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1924 г.

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

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

- 1.5.10. Вирусология (медицинские и биологические науки),
- 1.5.11. Микробиология (медицинские и биологические науки),
- 3.2.2. Эпидемиология (медицинские и биологические науки),
- 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские и биологические науки).

1

ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ

**ТОМ 100
2023**

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

Свидетельство ПИ № ФС77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)

ISSN 2686-7613 (Online)

DOI prefix: 10.36233

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.
Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

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

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

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

SCOPUS, Russian Science Citation
Index (RSCI), интегрированная с
платформой Web of Science; DOAJ;
Ulrich's Periodicals Directory, ROAD;
EBSCO Publishing (на платформе
EBSCOhost); CrossRef, Dimensions.

ПОДПИСКА:

ГК «Урал-пресс», индекс: 71436.

Тел.: +7(343) 262-65-43.

E-mail: info@ural-press.ru.

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

<https://www.microbiol.elpub.ru;>

<https://www.elibrary.ru;>

<https://www.cyberleninka.ru;>

<https://www.rucont.ru;>

[https://www.ebsco.com.](https://www.ebsco.com)

УЧРЕДИТЕЛИ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
www.crie.ru

Всероссийское научно-практическое
общество эпидемиологов,
микробиологов и паразитологов

ИЗДАТЕЛЬ:

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора
111123, Москва,

ул. Новогиреевская, д. 3А.

Тел.: +7(495) 974-96-46.

E-mail: crie@pcr.ru

Начальник редакционно-

издательского отдела:

Осокина Ольга Владимировна

РЕДАКЦИЯ:

111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.

Тел.: +7(925)011-87-79.

E-mail: jmei@crie.ru

Заведующая редакцией:

Устинкова Ольга Владимировна

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

К публикации принимаются только статьи,
подготовленные в соответствии с правилами
для авторов (www.microbiol.elpub.ru).

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

Подписано в печать 28.02.2023.

Формат 60×90^{1/8}. Тираж 280 экз.

Усл.-печ. л. 15,5.

Отпечатано в «Объединенный

полиграфический комплекс».

115114, Москва, Дербеневская

набережная, 7с2.

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

16+

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2023

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Зверев В.В., д.б.н., проф., acad. 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., главный научный сотрудник лабораторией эпидемиологии природно-очаговых
инфекций, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Российские члены редакционной коллегии

Акимкин В.Г., д.м.н., проф., acad. РАН, директор
ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

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

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

Бухарин О.В., д.м.н., проф., acad. РАН, научный
руководитель Института клеточного и внутриклеточного
симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург

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

Горелов А.В., д.м.н., проф., acad. РАН, зам.
директора по научной работе ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора, Москва

Жирнов О.П., д.б.н., проф., член-корр. РАН, зав. лабора-
торией вирусного патогенеза Института вирусологии
им. Д.И. Иванова, ФНИЦ эпидемиологии и микробио-
логии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи
Минздрава России, Москва

Караулов А.В., д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой
клинической иммунологии и аллергологии Института
клинической медицины, Первый Московский государ-
ственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва

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

Куличенко А.Н., д.м.н., проф., acad. РАН,
директор Ставропольского научно-исследовательского
противочумного института Роспотребнадзора,
Ставрополь, Россия

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

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

Иностранные члены редакционной коллегии

Alexander V. Bocharov, MD, PhD (Medicine), Staff
scientist, Department of Laboratory Chemistry, Clinical
Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

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

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

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

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, 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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Игнатьев Г.М., д.м.н., проф., зам. рук. направления каче-
ства и инновационных разработок ФГБНУ «Федеральный
научный центр исследований и разработки иммунобиоло-
гических препаратов им. М.П. Чумакова» РАН, Москва,
Россия

Кюрегян К.К., д.б.н., проф., зав. отделом изучения ви-
русных гепатитов НИИ молекулярной и персонализиро-
ванной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская
академия непрерывного профессионального образова-
ния», Москва, Россия

Мескина Е.Р., д.м.н., зав. отделением детских инфекций
отдела терапии, ГБУЗ МО «Московский областной
научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

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

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

Малеев В.В., д.м.н., проф., acad. РАН, советник
директора, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва

Михайлов М.И., д.м.н., проф., член-корр. РАН, зав. ла-
бораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток
им. И.И. Мечникова, Москва; проф. кафедры эпидемио-
логии Белгородского государственного университета,
Белгород

Несвижский Ю.В., д.м.н., проф., проф. кафедры микро-
биологии, вирусологии и иммунологии им. А.А. Воробье-
ва, Первый Московский государственный медицинский
университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский
Университет), Москва

Онищенко Г.Г., д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой
экологии человека и гигиены окружающей среды,
Первый Московский государственный медицинский уни-
верситет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),
Москва

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

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

Тотолян А.А., д.м.н., проф., acad. РАН, директор,
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

Черкасов С.В., д.м.н., проф., член-корр. РАН,
директор, Оренбургский федеральный исследователь-
ский центр Уральского отделения РАН, Оренбург

Шаркова В.А., д.м.н., проф., зав. кафедрой микробио-
логии и вирусологии, Тихоокеанский государственный
медицинский университет, Владивосток

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

Мефед К.М., к.б.н., зам. генерального директора по
трансферу лекарственных средств ООО «БиоИнтегра-
тор», группа компаний «ХимРАР», Москва, Россия

Мионов К.О., д.м.н., проф., зав. лаб. молекулярных методов
изучения генетических полиморфизмов ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Никонова А.А., к.б.н., зав. лаб. молекулярной
биотехнологии ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»,
Москва, Россия

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

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

Bimonthly scientific and practical journal

Founded in 1924

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

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

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

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

- 1.5.10. Virology (medical and biological sciences);
- 1.5.11. Microbiology (medical and biological sciences);
- 3.2.2. Epidemiology (medical and biological sciences);
- 3.2.7. Clinical immunology, Allergology (medical and sciences)

1

JANUARY–FEBRUARY

VOLUME 100

2023

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

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

DOI prefix: 10.36233

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

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

The CrossMark service is used.

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

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

SCOPUS, Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science; DOAJ; Ulrich's Periodicals Directory, ROAD; EBSCO Publishing (on the EBSCOhost platform); CrossRef; Dimensions.

Index for subscription to the printed version of the journal:

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

Full texts of issues of the journal are available:

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

FOUNDERS:

Central Research Institute for Epidemiology; Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

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

EDITORIAL OFFICE:

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

Head of the Editorial and publishing department:

Olga V. Osokina

Head of Editorial Office:

Olga V. Ustinkova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (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 February 28, 2023. Print format 60×90¹/₈. Circulation 280 copies.

Printed at the Ob'yedinenny poligraficheskii kompleks Ltd.115114, 7C2, Derbenevskaya emb., Moscow, Russian Federation.
E-mail: info@opk.bz. www.opk.bz

© Central Research Institute for Epidemiology, 2023

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), chief researcher, Laboratory of Zoonoses, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD

Russian members of the Editorial Board

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

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

Elena B. Brusina, professor, Dr. Sci. (Medicine), RAS Corr. Member, Head, Department of epidemiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo

Oleg V. Bukharin, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Scientific Director of the Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Academy of Sciences, Orenburg, Russia

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

Alexandr V. Gorelov, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Deputy Director for Scientific Research, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

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

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

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

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

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

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

Foreign members of the Editorial Board

Alexander V. Bocharov, MD, PhD (Medicine), Staff scientist, Department of Laboratory Chemistry, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, USA

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

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

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

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, 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

EDITORIAL COUNCIL

Georgy M. Ignatyev, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products, Moscow, Russia

Karen K. Kyuregyan, Dr. Sci. (Biology), Professor, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Elena R. Meskina, Dr. Sci. (Medicine), M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

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

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

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

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

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

Yury V. Nesvizhsky, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

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

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

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

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

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

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

Kirill M. Mefed, Cand. Sci. (Biology), BiolIntegrator LLC (HimRaR group of companies), Moscow, Russia

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Захарова М.Н., Аскарова Л.Ш., Симанив Т.О., Пирадов М.А., Акимкин В.Г. Анализ последовательностей некодирующей контрольной области ДНК изолятов вируса Джона Каннингема у пациентов с рассеянным склерозом, получавших натализумаб*	7
Несвижский Ю.В., Воропаев А.Д., Афанасьев С.С., Волчкова Е.В., Афанасьев М.С., Воропаева Е.А., Сулейманова М.Э., Буданова Е.В., Урбан Ю.Н. Взаимосвязь чувствительности <i>Candida albicans</i> к антимикотическим препаратам с архитектурой их сообщества в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов*	26
Дубянский В.М., Прислегина Д.А., Платонов А.Е. «Объясняющие» модели заболеваемости клещевыми инфекциями (на примере Астраханской риккетсиозной и Крымской-Конго геморрагической лихорадок)*	34
Патяшина М.А., Юзлибаева Л.Р. Изучение коллективного иммунитета к вирусу гепатита А среди населения Республики Татарстан	46
Лялина Л.В., Холопов Д.В., Язенок А.В., Хижа В.В., Топузов Э.Э., Касаткин Е.В., Горяев Е.А., Задоркина Т.Г., Молчанова Ж.Р. Клинико-эпидемиологическая характеристика злокачественных новообразований, ассоциированных с вирусом папилломы человека, в регионах Северо-Запада России	52
Семериков В.В., Софронова Л.В., Постаногова Н.О., Юминова Н.В., Долгова Е.И., Воробьева Н.Н. Стандартное определение клинического случая эпидемического паротита и диагностическая эффективность применяемых тест-систем в современный период	65
Арзумян В.Г., Колыганова Т.И., Вартанова Н.О., Ожован И.М., Кравцова Е.О., Зеерев В.В. Условно-патогенная микробиота грудного молока и антимикробная активность сыворотки на разных сроках лактации	74
Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н. Повышение иммуногенной и протективной активности вакцинного штамма <i>Yersinia pestis</i> EV линии НИИЭГ с использованием синтетических иммуномодуляторов	84
Мурзина А.А., Борисова О.В., Кальнин И.Б., Каура А.Н. Оценка гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников крупного специализированного стационара	95
Филиппова Е.И., Макаревич Е.В., Проценко М.А., Мазурков О.Ю., Теплякова Т.В., Мазуркова Н.А. Исследование противовирусной активности водорастворимого меланина из аптечной чаги (<i>Inonotus obliquus</i>) в отношении вируса гриппа А субтипов H5N1, H3N2 и H1N1pdm09 в экспериментах <i>in vitro</i>	103
ОБЗОРЫ	
Костин Р.К., Малюгин Д.А., Соленова Л.Г., Кулаева Е.Д. Микробиота желудочно-кишечного тракта и канцерогенез в различных органах человека	110
Баркова И.А., Ижбердеева М.П., Сауткина А.А. Эндолизины бактериофагов	126
ИНФОРМАЦИЯ	
Объявление о Юбилейной конференции, посвященной 60-летию Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии «Эпидемиология и инфекционные болезни: связь времен и поколений»	135

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

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Zakharova M.N., Askarova L.S., Simaniv T.O., Piradov M.A., Akimkin V.G. Sequence analysis of the non-coding control region of John Cunningham virus isolates from patients with multiple sclerosis treated with natalizumab*	7
Nesvizhsky Yu.V., Voropaev A.D., Afanasiev S.S., Zverev V.V., Volchkova E.V., Afanasiev M.S., Voropaeva E.A., Suleymanova M.E., Budanova E.V., Urban Y.N. The association between <i>Candida albicans</i> sensitivity to antimycotic drugs and the architecture of their microbial community in the oropharynx of HIV infected patients*	26
Dubyanskiy V.M., Prislegina D.A., Platonov A.E. Explanatory models for tick-borne disease incidence (Astrakhan rickettsial fever and Crimean-Congo hemorrhagic fever)*	34
Patyashina M.A., Yuzlibaeva L.R. Assessment of herd immunity to hepatitis A virus among the population of the Republic of Tatarstan	46
Lyalina L.V., Kholopov D.V., Yazenok A.V., Khizha V.V., Kasatkin E.V., Topuzov E.E., Goryaev E.A., Zadorkina T.G., Molchanova Zh.R. Clinical and epidemiological characteristics of cancers associated with human papillomavirus in the regions of North-West Russia	52
Semerikov V.V., Safronova L.V., Postanogova N.O., Yuminova N.V., Dolgova E.I., Vorobyeva N.N. Standard definition of a clinical case of mumps and diagnostic effectiveness of the test systems used in the modern period	65
Arzumanian V.G., Kolyganova T.I., Vartanova N.O., Ozhovan I.M., Kravtsova E.O., Zverev V.V. Opportunistic microbiota of breast milk and antimicrobial activity of milk whey at different periods of lactation	74
Goncharova A.Y., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N. Increasing the immunogenic and protective activity of the vaccine strain <i>Yersinia pestis</i> EV line NIIEG using synthetic immunomodulators	84
Murzina A.A., Borisova O.V., Kalnin I.B., Kaira A.N. Assessment of humoral immunity to SARS-CoV-2 by a sample examination of medical workers in a large specialized multidisciplinary hospital	95
Filippova E.I., Makarevich E.V., Protzenko M.A., Mazurkov O.Yu., Teplyakova T.V., Mazurkova N.A. Research on the antiviral activity of water-soluble melanin from the pharmaceutical chaga mushroom (<i>Inonotus obliquus</i>) against influenza A virus subtypes H5N1, H3N2 and H1N1pdm09 in experiments <i>in vitro</i>	103
REVIEWS	
Kostin R.K., Malyugin D.A., Solenova L.G., Kulaeva E.D. Gut microbiota and carcinogenesis in various human organs	110
Barkova I.A., Izhberdeeva M.P., Sautkina A.A. Endolysins of bacteriophages	126
INFORMATION	
Announcement of the Anniversary Conference dedicated to the 60 th anniversary of the Central Research Institute of Epidemiology "Epidemiology and infectious diseases: connection of times and generations"	135

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

ORIGINAL RESEARCHES

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-341>



Sequence analysis of the non-coding control region of John Cunningham virus isolates from patients with multiple sclerosis treated with natalizumab

Marina A. Tyumentseva^{1✉}, Alexandr I. Tyumentsev¹, Maria N. Zakharova²,
Lola S. Askarova², Taras O. Simaniv², Mikhail A. Piradov², Vasily G. Akimkin¹

¹Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia;

²Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The John Cunningham virus (JCPyV) causes a fatal demyelinating disease of the central nervous system known as progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). In healthy people, the JCPyV non-coding control region (NCCR) is not rearranged, while NCCRs in immunocompromised patients are characterized by frequent rearrangements and can be associated with PML development. Therefore, patients treated with natalizumab, which decreases the migration of leukocytes and monocytes through the blood-brain barrier to inflammatory foci, are at increased risk of developing PML.

The **purpose** of the study was to analyze NCCR sequences of JCPyV isolates from patients with multiple sclerosis (MS) treated with natalizumab.

Materials and methods. A total of 26 blood plasma samples and 8 cerebrospinal fluid samples were analyzed using nested PCR to study the JCPyV NCCR structure in Russian MS patients treated with natalizumab. The NCCRs present in the samples were cloned and sequenced by Sanger sequencing. All the JCPyV NCCR sequences were compared with the archetype sequence and mapped. The NCCR sequences were also examined for presence of putative transcription factor binding sites.

Results. A total of 48 NCCR sequences were found. The analysis showed that up to 55% of NCCRs were identified as rearranged NCCRs, while the other were archetype-like NCCRs. All the sequences can be divided into 6 types with one dominant rearrangement pattern. This rearranged NCCR was also found in a patient with the confirmed PML diagnosis and a poor prognosis. All the rearranged NCCRs were characterized by the presence of additional transcription factor binding sites.

Conclusion. The study has helped identify previously unknown NCCR patterns typical of MS patients treated with natalizumab in Russia, thus confirming the need for the further research on NCCR rearrangements in MS patients undergoing natalizumab treatment to gain better understanding of the origin of neurovirulent JCPyV variants.

Keywords: JCPyV, non-coding control region (NCCR), multiple sclerosis, natalizumab

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 1-2/22, January 19, 2022).

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

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

For citation: Tyumentseva M.A., Tyumentsev A.I., Zakharova M.N., Askarova L.S., Simaniv T.O., Piradov M.A., Akimkin V.G. Sequence analysis of the non-coding control region of John Cunningham virus isolates from patients with multiple sclerosis treated with natalizumab. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):7–25.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-341>

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-341>

Анализ последовательностей некодирующей контрольной области ДНК изолятов вируса Джона Каннингема у пациентов с рассеянным склерозом, получавших натализумаб

Тюменцева М.А.^{1✉}, Тюменцев А.И.¹, Захарова М.Н.², Аскарлова Л.Ш.², Симанив Т.О.², Пирадов М.А.², Акимкин В.Г.¹

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

²Научный центр неврологии, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Вирус Джона Каннингема (JCPyV) вызывает фатальное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, известное как прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ). У здоровых людей некодирующая контрольная область (NCCR) JCPyV не перестраивается, в то время как NCCR у пациентов с ослабленным иммунитетом часто перестраиваются и могут быть связаны с развитием ПМЛ. В связи с этим у пациентов, получающих терапию натализумабом, действующим на уровне гематоэнцефалического барьера и вызывающим уменьшение миграции лимфоцитов и моноцитов в воспалительные очаги, повышается риск развития ПМЛ.

Цель исследования — проанализировать последовательности NCCR изолятов JCPyV у пациентов с рассеянным склерозом (РС), получавших натализумаб.

Материалы и методы. Для оценки структуры NCCR JCPyV у российских пациентов с РС, получавших натализумаб, методом ПЦР с вложенной парой праймеров проанализировано 26 образцов плазмы крови и 8 образцов цереброспинальной жидкости. NCCR, присутствующие в образцах, были клонированы и секвенированы по методу Сэнгера. Все последовательности JCPyV NCCR сравнивали с последовательностью архетипа и картировали. Последовательности NCCR были также проанализированы на наличие предполагаемых сайтов связывания факторов транскрипции.

Результаты. Обнаружены 48 последовательностей NCCR. Анализ показал, что до 55% NCCR идентифицируются как перестроенные NCCR, остальные являются архетипоподобными. Все полученные последовательности можно разделить на 6 типов с преобладанием одного паттерна перестройки. Этот перестроенный NCCR был также обнаружен у пациента с подтвержденным диагнозом ПМЛ с плохим прогнозом. Все перестроенные NCCR характеризовались наличием дополнительных сайтов связывания факторов транскрипции.

Заключение. Проведенное исследование позволило впервые выявить паттерны NCCR, характерные для больных РС, принимавших натализумаб, в России, что подтверждает необходимость дальнейшего исследования перестроек NCCR у пациентов с РС, получавших натализумаб, для расширения представлений о возникновении нейровирулентных вариантов JCPyV.

Ключевые слова: JCPyV, некодирующая контрольная область (NCCR), рассеянный склероз, натализумаб

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 1-2/22 от 19.01.2022).

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

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

Для цитирования: Тюменцева М.А., Тюменцев А.И., Захарова М.Н., Аскарлова Л.Ш., Симанив Т.О., Пирадов М.А., Акимкин В.Г. Анализ последовательностей некодирующей контрольной области ДНК изолятов вируса Джона Каннингема у пациентов с рассеянным склерозом, получавших натализумаб. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2023;100(1):7–5.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-341>

Introduction

Human polyomavirus 2, commonly referred to as the JC virus or John Cunningham virus (JCPyV), is a representative of genus *Betapolyomavirus*, family *Polyomaviridae*. JCPyV is a non-enveloped virus with double-stranded DNA genome comprised of approximately 5,100 bp. The JCPyV genome can be divided into three parts: the non-coding control region (NCCR), the early viral gene region, and the late viral gene region [1].

NCCR is a hypervariable JCPyV promoter/enhancer region approximately 400 bp long; it contains most of the elements required for initiation of early and late transcription and viral gene expression, including TATA boxes and transcription factor binding sites [2]. The early viral gene region is located leftward to the replication origin and encodes the small T-antigen, large T-antigen, and truncated version of the large T-antigen. These proteins are responsible for virus replication and late gene expression [3, 4]. The late viral gene region is located rightward to the replication origin and encodes three structural proteins: major capsid protein VP1 and minor capsid proteins VP2 and VP3. Each JCPyV virion contains a total of 72 pentameric capsomeres of VP1 with T=7 icosahedral symmetry. Inside the capsid, one molecule – VP2 or VP3 – is attached to each capsomere of VP1 [5].

JCPyV is an etiological agent causing a rare, rapidly progressing, often fatal, demyelinating disease of the central nervous system known as progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) observed in patients with impaired humoral and cell-mediated immunity [6]. JCPyV can cross the blood-brain barrier and get into the central nervous system where it infects oligodendrocytes and astrocytes [7, 8]. Based on some data, 70-90% of people are infected with JCPyV [9, 10]. The non-rearranged archetypal form of JCPyV that can be found in healthy people is seen as harmless, while the rearranged form known as the prototype is found in the central nervous system of PML patients. The prototype nearly always has differences in NCCR compared to the JCPyV sequence found in healthy people [11, 12]. These differences in NCCR can alter JCPyV tropism by changing DNA binding sites for cellular transcription factors in cells permissive for infection [2, 13]. It is also assumed that these differences activate virus replication and gene transcription in glial cells, eventually launching the lytic cycle [14, 15].

Immunodeficiency or immunosuppression leads to JCPyV reactivation and switchover from the archetype to the prototype. There are known cases when JCPyV changed into an aggressive PML-inducing form during treatment with such agents as natalizumab, rituximab, dimethyl fumarate, fingolimod, efalizumab, brentuximab vedotin and other immunosuppressants [16–21].

Natalizumab is a humanized monoclonal antibody selectively binding to $\alpha 4$ -integrin; it is used for

treatment of relapsing forms of MS. Natalizumab is administered to patients with highly active disease. On average, PML is diagnosed in 4.19 cases per 1,000 patients treated with natalizumab (95% CI, 3.89–4.49) [22, 23].

There are three main risk factors associated with development of PML during the natalizumab therapy:

- the presence of anti-JCPyV antibodies (seropositive patients with anti-JCPyV);
- the duration of therapy, especially beyond 2 years;
- the prior treatment with immunosuppressants before the natalizumab therapy [24].

Special guidelines for management of patients with multiple sclerosis (MS) treated with natalizumab have been developed to prevent development of PML. Clinical practice incorporates risk management plans including regular monitoring of the anti-JCPyV antibody index values and potential seroconversion as well as brain MRI (for detection of any changes typical of PML) [25–29]. If PML is suspected, the PCR test is used to detect JCPyV DNA in cerebrospinal fluid (CSF) [24].

A diagnosis of probable PML is made in the presence of typical clinical and radiological findings, in the absence of positive detection of JCPyV in CSF and brain tissue by PCR; a diagnosis of laboratory confirmed PML is made when JCPyV DNA is detected in CSF of the patient. Histologically confirmed PML is diagnosed by isolation of JCPyV using PCR from the patient's brain biopsy material. JCPyV DNA detection and NCCR sequence analysis are highly recommended to accurately identify JCPyV-infected MS patients treated with natalizumab and to identify NCCR rearrangements that can correlate with the emergence of neurovirulent variants [30].

The **purpose** of the study is to analyze multiple NCCR variants in plasma and CSF of natalizumab-treated patients from Russia.

Materials and methods

Samples

Plasma and CSF samples were collected from natalizumab-treated MS patients having the anti-JCPyV antibody index ≥ 1.5 . Each patient was duly informed and signed their informed consent for participation in the study. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 1-2/22, January 19, 2022).

All samples were stored frozen and thawed on ice prior to being used for viral DNA extraction.

Extraction of viral DNA

JCPyV DNA was extracted from a total of 26 plasma samples and 8 CSF samples. Blood samples were collected in VACUETTE® 4 ml LH Lithium Heparin

tubes (Greiner Bio-One) and centrifuged at 3500 rpm for 10 min. DNA was extracted from 200 µl of plasma and/or CSF using the DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen Inc.); DNA was eluted using 75 µl elution buffer. JCPyV DNA concentration was measured with a NanoDrop 2000c spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific). All the extracted DNA samples were stored frozen prior to their further use.

Quantification of JCPyV DNA

JCPyV DNA was quantified with an AmpliSens® JCV-BKV screen/monitor-FRT PCR kit (Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor) with the detection limit of 5×10^2 gEq/ml, in accordance with the manufacturer's recommendations.

Amplification of JCPyV NCCR sequences

For amplification of NCCR sequences from viral DNA by nested PCR, we used two pairs of primers [31]. A pair of outer primers was used for the first round of PCR:

- 1 — forward primer
5'-GATTCCTCCCTATTCAGCACTTTG-3';
- 1 — reverse primer
5'-CACCTGTGCAAAAAGTCCAGC-3'.

This pair of primers is used to amplify archetype JCPyV genome fragments (GenBank accession number AB038249 [32]) 540 bp long. A pair of inner primers was used for the second round of amplification:

- 2 — forward primer
5'-GGCCTCCTAAAAAGCC-3';
- 2 — reverse primer
5'-TCCACTCCAGGTTTTACTAA-3'.

These primers were used for amplification of a 386 bp fragment of archetype JCPyV (GenBank accession number AB038249).

Phusion™ High-Fidelity DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific) was used in the first round of amplification. The thermal profile is as follows:

- initial denaturation: 98°C for 30 sec;
- 35 cycles: 98°C for 10 sec, 55°C for 45 sec, 72°C for 30 sec;
- final elongation: 72°C for 5 min.

3 µl of the amplicon from the first round of PCR were used for the second round of PCR using Taq polymerase (the 2x PCR Blue Mix, Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor).

The thermal profile of amplification:

- initial denaturation: 95°C for 3 min;
- 40 cycles: 95°C for 15 sec, 55°C for 45 sec, 72°C for 30 sec;
- final elongation: 72°C for 5 min.

The PCR products received after the second round of amplification were analyzed by 1% agarose gel electrophoresis and staining with ethidium bromide. The PCR products were used for direct Sanger sequencing and for cloning.

Cloning of JCPyV NCCR sequences

JCPyV NCCRs present in plasma and/or CSF samples were amplified using nested PCR [31] and then were cloned into the pGEM-T vector (Promega®). The plasmids obtained from cloning were transformed into chemically competent cells XL10-Gold *E. coli*. Transformed *E. coli* were grown at 37°C in Luria-Bertani agar plates with ampicillin (100 µg/ml), X-gal (80 µg/ml), and IPTG (0.5 mM). The obtained clones were screened using M13forward and M13reverse primers. After the screening, 10–20 clones obtained from each plasma and/or CSF sample were sequenced.

Sequencing JCPyV NCCR sequences

Prior to sequencing, the PCR products corresponding to JCPyV NCCRs were purified using a QIAquick PCR purification kit (Qiagen Inc.) in accordance with the manufacturer's protocol. The DNA sequencing was performed with the Applied Biosystems 3500xL genetic analyzer.

Amplification of JCPyV VP1 sequences

To identify a JCPyV genotype of the isolates from plasma and/or CSF samples, a fragment of the viral protein 1 (VP1) gene 215 bp long was amplified using one pair of primers: JLP-15 (5'-ACAGTGTGGCCAGAAT-TCCACTACC-3') and JLP-16 (5'-TAAAGCCTC-CCCCCAACAGAAA-3') [33]. PCR was performed using Taq polymerase (the 2x PCR Blue Mix, Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor) in accordance with the following procedure:

- initial denaturation: 95°C for 3 min;
- 40 cycles: 95°C for 15 sec, 55°C for 45 sec, 72°C for 30 sec;
- final elongation: 72°C for 5 min.

The PCR products were analyzed by 1% agarose gel electrophoresis and staining with ethidium bromide, followed by direct Sanger DNA sequencing.

Sequencing DNA JCPyV NCCR and VP1 sequences

The PCR products corresponding to the NCCR and VP1 JCPyV regions were purified using a QIAquick PCR purification kit (Qiagen Inc.) in accordance with the manufacturer's protocol. The DNA sequencing was performed with the Applied Biosystems 3500xL genetic analyzer.

All NCCR sequences were compared with the CY archetype sequence (GenBank accession number AB038249) [32]. All NCCR sequences were mapped using the SnapGene Viewer software and divided into segments A, B, C, D, E, and F composed of 25, 23, 55, 66, 18, and 69 base pairs, respectively [11].

The sequences obtained after the amplification of the VP1 region were compared with the respective sequences of JCPyV isolates of different genotypes/subtypes with accession numbers GenBank AF015526

(genotype 1A), AF281599 (genotype 1B), AF030085 (genotype 2A), AF015532 (genotype 2B), AF015534 (genotype 2C), AF015536 (genotype 2D), AF295731 (genotype 3A), U73501 (genotype 3B), AF015528 (genotype 4), AF015537 (genotype 6), AF295737 (genotype 7) and AF281623 (genotype 8). The sequence alignment and phylogenetic analysis were carried out using the MEGA 7 software [34].

Analysis of NCCR nucleotide sequences

The NCCR sequences were analyzed for the presence of putative transcription factor binding sites using the PROMO virtual laboratory resource¹ [35, 36].

Accession numbers of sequences

All the NCCR sequences were deposited to the GenBank NCBI database, with assigned accession numbers OM479515–OM479562.

Statistical analysis of the data

The statistical analysis (Student's t-test) was performed using the unpaired t-test built-in module of GraphPad PrismTM 9 software.

Results

DNA quantification and JCPyV genotypes

A total of 26 plasma samples and 8 CSF samples collected from MS patients treated with natalizumab, having anti-JCPyV antibody index ≥ 1.5 , were used for quantification of JCPyV DNA (**Table 1**). JCPyV DNA was detected in plasma and CSF of only 1 patient (NAT-1). The patient was diagnosed with PML, and samples were collected when he was in the vegetative state. Most of the studied samples contained JCPyV DNA at the levels lower than the detection limit set for the PCR kit used for quantification of JCPyV DNA (lower than 5×10^2 gEq/ml). It correlates with the low number of JCPyV copies observed in most confirmed cases of PML [24].

All the detected JCPyV isolates belonged to type I (genotypes 1A and 1B, Table 1) widely occurring in Europe [37]. The most frequently observed genotype was type 1B, being found in 75% of patients. Note that JCPyV of different genotypes (9/7/2019 – 1B, 3/10/2019 – 1A) was detected in patient NAT-10 in plasma collected during different periods of time, while JCPyV of genotype 1B was detected in the patient's CSF collected on 21/10/2019. In patient NAT-15, JCPyV of genotype 1A was detected in the plasma collected on 1/11/2019, while JCPyV of genotype 1B was detected in CSF collected on 6/2/2020.

Types of JCPyV NCCR sequences in MS patients treated with natalizumab

JCPyV NCCRs were found in 21 MS patients treated with natalizumab: 37 independent JCPyV NCCR sequences were obtained from 26 plasma samples and 10 independent JCPyV NCCR sequences were obtained from 8 CSF samples. One case of primary immunodeficiency ID-1, where JCPyV NCCR was detected in plasma, was analyzed additionally.

Based on the NCCR classification [31], more than 50% of NCCRs obtained from plasma of MS patients treated with natalizumab belong to rearranged NCCRs of subtype II-R (52.63%; 20 of 38 JCPyV NCCR sequences). Nearly half (48.65%; 18 of 38) of JCPyV NCCRs found in plasma of MS patients treated with natalizumab belong to archetype-like NCCRs of subtype II-S. Similarly, 60% (6 of 10) of NCCRs obtained from CSF of MS patients treated with natalizumab belong to rearranged NCCRs of subtype II-R, while the other NCCRs belong to archetype-like subtype II-S (40%, 4 of 10).

Note that JCPyV NCCRs obtained from 1 patient with the confirmed diagnosis of PML and a poor prognosis (samples were collected when he was in the vegetative state) and detectable JCPyV DNA belonged to rearranged JCPyV NCCRs of subtype II-R. On the other hand, NCCRs from another MS patient treated with natalizumab, having the confirmed diagnosis of PML with the favorable outcome and undetectable JCPyV DNA, belonged to archetype-like subtype II-S.

In addition, the NCCR sequence obtained from the plasma of a patient with primary immunodeficiency (ID-1; GenBank accession number OM479515), who did not take natalizumab, is 99% homologous to the published archetype NCCR, except for 1 point mutation in segment F, and belongs to archetype NCCR subtype II-S.

All the retrieved JCPyV NCCR sequences were divided into 6 different types (without regard to point mutations): types I-IV belong to rearranged NCCRs of subtype II-R (a total of 26 NCCRs, 20 from plasma and 6 from CSF, respectively); types V and VI belong to archetype-like subtype II-S (a total of 22 NCCRs, 18 from plasma and 4 from CSF, respectively); the sequences structures are shown in **Table 2**. The detected types of JCPyV NCCR sequences are schematically presented in **Fig. 1**.

Type I is represented by NCCR of type II-R, in which the fragment composed of segments B, C, D, and E (BCDE), tandemly repeated for 3 times. NCCR of type I was detected in a plasma sample from patient NAT-3 (5%; 1 of 20 rearranged NCCRs) and in a CSF sample from patient NAT-18 (16.7%, 1 of 6 rearranged NCCRs). Like NCCR of type I, type II is represented by NCCR of type II-R, but BCDE-fragment is tandemly repeated twice. NCCR of type II, most frequently found

¹ URL: http://algggen.lsi.upc.es/cgi-bin/promo_v3/promo/promoinit.cgi?dirDB=TF_8.3

Table 1. Characteristics of samples obtained from MS patients treated with natalizumab

No.	Patient ID	Number of natalizumab infusions, pcs	Anti-JCPyV antibody index	Quantification of JCPyV DNA, gEq/ml	JCPyV genotype
Blood plasma					
1	NAT-1/1	H. d. N. d.	H. d. N. d.	$6,88 \times 10^2$	1A
2	NAT-1/2	H. d. N. d.	H. d. N. d.	$< 1 \times 10^3$	1A
3	NAT-2	36	2,14	H. o. N. def.	H. o. N. def.
4	NAT-3	22	2,127	H. o. N. def.	1B
5	NAT-4/1	16	2,43	H. o. N. def.	1B
6	NAT-4/2	16	2,43	H. o. N. def.	1B
7	NAT-5	9	2,64	H. o. N. def.	1B
8	NAT-6	11	H. d. N. d.	H. o. N. def.	1B
9	NAT-7	32	2,63	H. o. N. def.	H. o. N. def.
10	NAT-8/1	24	2,11	H. o. N. def.	1B
11	NAT-8/2	24	2,64	H. o. N. def.	1B
12	NAT-9	18	2,194	H. o. N. def.	1A
13	NAT-10/1	25	1,529	H. o. N. def.	1B
14	NAT-10/2	25	1,529	H. o. N. def.	1A
15	NAT-11	20	0,259	H. o. N. def.	H. o. N. def.
16	NAT-12	26	2,582	H. o. N. def.	1B
17	NAT-13	28	2,38	H. o. N. def.	1B
18	NAT-14	35	2,179	H. o. N. def.	1A
19	NAT-15/1	27	2,353	H. o. N. def.	1A
20	NAT-16	12	2,773	H. o. N. def.	Type 1
21	NAT-17	40	3,4	H. o. N. def.	1B
22	NAT-18	24	H. d. N. d.	H. o. N. def.	H. o. N. def.
23	NAT-19	H. d. N. d.	H. d. N. d.	H. o. N. def.	1B
24	NAT-20	H. d. N. d.	H. d. N. d.	H. o. N. def.	1B
25	NAT-21	H. d. N. d.	H. d. N. d.	H. o. N. def.	1B
26	NAT-22	H. d. N. d.	2,7	H. o. N. def.	1B
Cerebrospinal fluid					
1	NAT-1/1	H. d. N. d.	–	$1,45 \times 10^3$	1A
2	NAT-2	36	–	H. o. N. def.	H. o. N. def.
3	NAT-3	22	–	H. o. N. def.	1B
4	NAT-4	16	–	H. o. N. def.	1B
5	NAT-5	9	–	H. o. N. def.	1B
6	NAT-10/3	25	–	H. o. N. def.	1B
7	NAT-15/2	27	–	H. o. N. def.	1B
8	NAT-18	24	H. d. N. d.	H. o. N. def.	H. o. N. def.

Note. N. d. — no data; N. def. — not defined.

Table 2. Characterization of NCCR sequences identified in MS patients treated with natalizumab

No.	GenBank accession number	Sequence formula
Blood plasma		
<i>Type I (II-R, (BCDE)₂)</i>		
1	OM479519	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
<i>Type II (II-R, (BCDE)₂)</i>		
2	OM479520	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
3	OM479516	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
4	OM479517	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-45} -CCTAACCTCCTA-D_{3-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-45} CCTAACCTCCTA-D_{3-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-69}$
5	OM479526	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
6	OM479528	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
7	OM479534	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
8	OM479538	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
9	OM479531	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
10	OM479523	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
11	OM479542	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
12	OM479545	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
13	OM479552	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
14	OM479557	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
<i>Type III (II-R, BCDEBC)</i>		
15	OM479550	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} F_{40-69}$
16	OM479558	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} F_{40-69}$
17	OM479561	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-2} -A_{25} -B_{1-23} C_{1-55} F_{40-69}$
18	OM479555	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} -F_{1-3} -B_{1-23} C_{1-55} F_{40-69}$
<i>Type IV (II-R, C₁₋₃₄C₅₋₅₅)</i>		
19	OM479529	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-34} C_{5-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
20	OM479535	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-34} C_{5-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$
<i>Type V (II-S, ABCD₃₀ and other truncated NCCR)</i>		
21	OM479522	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
22	OM479530	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
23	OM479541	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
24	OM479544	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
25	OM479559	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
26	OM479562	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-30}$
27	OM479533	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66}$
<i>Type VI (II-S, archetype-like with Box D typical deletion)</i>		
28	OM479518	$A_{1-25} B_{1-23} C_{1-55} D_{1-39} D_{46-66} E_{1-18} F_{1-69}$

No.	GenBank accession number	Sequence formula
29	OM479532	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
30	OM479539	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
31	OM479536	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
32	OM479540	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
33	OM479543	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
34	OM479560	$A_{1-24}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
35	OM479549	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
36	OM479551	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
37	OM479556	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
<i>Archetype</i>		
38	OM479515	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-66}E_{1-18}F_{1-69}$
Cerebrospinal fluid		
<i>Type I (II-R, (BCDE)₃)</i>		
1	OM479554	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
<i>Type II (II-R, (BCDE)₂)</i>		
2	OM479525	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
3	OM479527	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
4	OM479553	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
<i>Type III (II-R, BCDEBC)</i>		
5	OM479521	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-2}-A_{25}-B_{1-23}C_{1-55}F_{40-69}$
6	OM479546	$A_{1-24}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}-GGGAAT-B_{4-20}-ATG-C_{1-52}-CCCCA-F_{42-67}$
<i>Type V (II-S, ABCD₃₀ and other truncated NCCR)</i>		
7	OM479547	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-30}$
<i>Type VI (II-S, archetype-like with Box D typical deletion)</i>		
8	OM479524	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
9	OM479537	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$
10	OM479548	$A_{1-25}B_{1-23}C_{1-55}D_{1-39}D_{46-66}E_{1-18}F_{1-69}$

in NCCR samples, was detected in 13 plasma samples (65%; 13 of 20 rearranged NCCRs) and 3 CSF (50%; 3 of 6 rearranged NCCRs).

NCCR of type I is a new, unique, rearranged NCCR variant that has no homology with the NCCR sequences published previously in NCBI GenBank (confirmed by the nucleotide BLAST analysis). NCCR of type II is also a rare rearranged NCCR variant that has homology with the NIID11-68 NCCR sequence (GenBank accession number LC164353), which was depos-

ited to the NCBI GenBank. The NCCR variant of type II was identified for the first time in plasma and CSF of a patient with the confirmed diagnosis of PML, a poor prognosis and detectable JCPyV DNA.

NCCR of type III belongs to type II-R that has an additional copy of the BC-fragment, which is integrated between segments E and F. NCCR of type III was found in 4 plasma samples (20%; 4 of 20 rearranged NCCRs) and in 2 CSF samples (33.3%; 2 of 6 rearranged NCCRs).

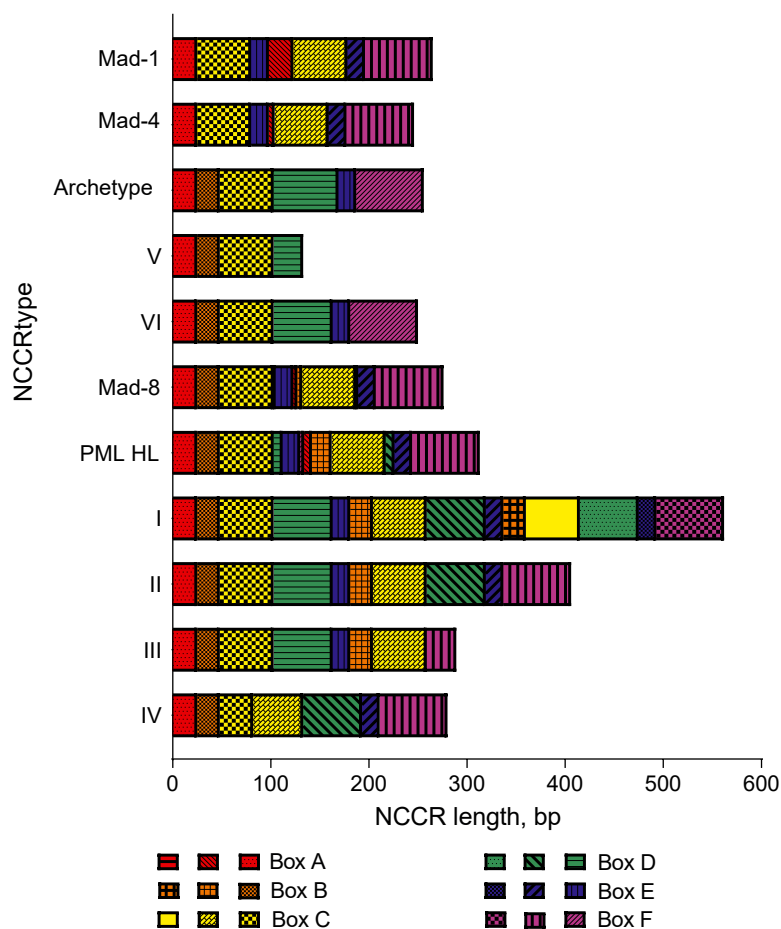


Fig. 1. Schematic representation of the structure of JCPyV NCCR sequences identified in MS patients treated with natalizumab.

Type IV is represented by II-R NCCR, where segment C is repeated tandemly. This NCCR variant was found only in plasma from 2 MS patients treated with natalizumab, NAT-8 and NAT-10 (10%; 2 of 20 rearranged NCCRs).

NCCRs of types V and VI are archetype-like NCCRs of subtype II-S. Type V is a shortened NCCR variant, which lacks segments E and F (8 of 9 non-rearranged NCCRs) or segments A, B, and C (1 of 9 non-rearranged NCCRs). NCCRs of type V were most frequently detected in plasma (8 of 9 non-rearranged NCCRs), and 1 time in the CSF sample from patient NAT-15.

Type VI is represented by NCCR of type II-S having more than 98% homology with the published archetype CY NCCR (GenBank accession number AB038249), except for the 6-bp nucleotide deletion in segment D. More than half (55.5%) of NCCRs of type VI were detected in plasma samples (10 of 18 II-S NCCRs) and 75% (3 of 4 II-S NCCRs) – in CSF samples. It should be noted that NCCR of type VI was detected in plasma and CSF of the patient with the PML diagnosis, favorable outcome, and unquantifiable JCPyV DNA.

Comparative analysis of occurrence of putative transcription factor binding sites in JCPyV NCCR in MS patients treated with natalizumab

The comparative analysis of the occurrence of putative transcription factor binding sites included sequences of archetype NCCR (as a reference sequence) and sequences of NCCR prototypes: Mad-1 [12, 38], Mad-4 [39, 40], Mad-8 [40], and PML HL [41]. The analysis showed that all types of NCCRs contain the number of binding sites of transcription factors comparable with archetypal NCCR, including Pentamut, L3 (Spi-B), L6 (Spi-B), L18 (Spi-B), L8 (Spi-B), Pseudo-NF-1 site, p53, AP-1-like site, AP-4, PEA3, GABP, GABP-alpha, TATA box, TFIID, and TBP. At the same time, the number of transcription factor binding sites such as GA box (SP-1 site), c-Jun, NF-1 motif, NF-1, c-Fos, HMG I(Y), MEF-2A, C/EBPalpha, TEF-1, and GF1 in rearranged NCCRs of types I-IV was larger compared to archetype-like NCCRs (archetype, type V, and type VI) (**Table 3**).

It has also been found that in NCCR sequences, which belong to type II-R (type I, II, III, IV, Mad-8, and PML HL), putative transcription factor binding sites NF-1, GF1, and AP-1 occur significantly more fre-

Table 3. Putative binding sites of transcription factors in JCPyV NCCR in MS patients treated with natalizumab

	Archetype (II-S)	Type V (II-S)	Type VI (II-S)	Type (II-R)	Type II (II-R)	Type III (II-R)	Type IV (II-R)	Mad-8 (II-R)	PML HL (II-R)	Mad-1 (I-R)	Mad-4 (I-R)
Pentamut	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
L3 (Spi-B)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
L6 (Spi-B)	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
L18 (Spi-B)	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
L8 (Spi-B)	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
Pseudo-NF-1 site	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
p53	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
AP-1-like site	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
AP-4	2	0	2	2	2	2	2	1	2	2	2
PEA3	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
GABP	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
GABP-alpha	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
TATA box	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
TFIID	2	1	2	4	3	2	2	1	1	2	1
TBP	2	1	2	4	3	2	2	1	1	2	1
GA box (SP-1 site)	1	1	1	3	2	2	1	1	1	0	0
c-Jun	2	0	1	1	1	1	1	3	3	1	1
NF-1 motif	5	3	5	11	8	6	5	6	6	4	4
NF-1	4	2	4	8	6	5	5	6	6	6	6
c-Fos	12	5	11	18	15	10	11	15	15	14	11
HMG I(Y)	8	6	8	10	9	8	8	9	11	12	7
MEF-2A	1	1	1	3	2	2	1	1	2	0	0
C/EBPalpha	3	0	3	4	4	1	3	6	6	4	4
TEF-1	1	1	1	3	2	1	1	0	0	0	0
GF1	1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	2
CRE-TAR	1	1	1	3	2	2	1	2	2	2	2
AP-1 motif	1	1	1	3	2	2	2	2	2	2	2

Note. White indicates putative transcription factor binding sites that have not changed in number compared to the archetype sequence; light grey indicates putative transcription factor binding sites that have decreased in number compared to the archetype sequence; dark grey indicates putative transcription factor binding sites that have increased in number compared to the archetype sequence.

quently ($p < 0.0001$) than in NCCR sequences, which belong to type II-S (the archetype of types V and VI) (Fig. 2).

Heterogeneity of JCPyV NCCR populations in MS patients treated with natalizumab

The performed analysis showed that 12 MS patients treated with natalizumab had several circulating variants of the virus (Table 4). Two NCCR variants were detected in 6 patients, 3 variants were found in 4

patients, 2 patients had 4 variants (Table 4). NCCRs of type I and type IV (2 of 12) were detected most rarely in combinations of virus variants; NCCR of type III was detected 5 times in the found combinations; NCCRs of types II and V were detected 7 times. Archetype-like NCCR of type VI was the most frequently occurring NCCR in combinations of virus variants (9 of 12).

Note that different variants of the virus were found in different body compartments (plasma and CSF). However, no significant differences in the frequency of oc-

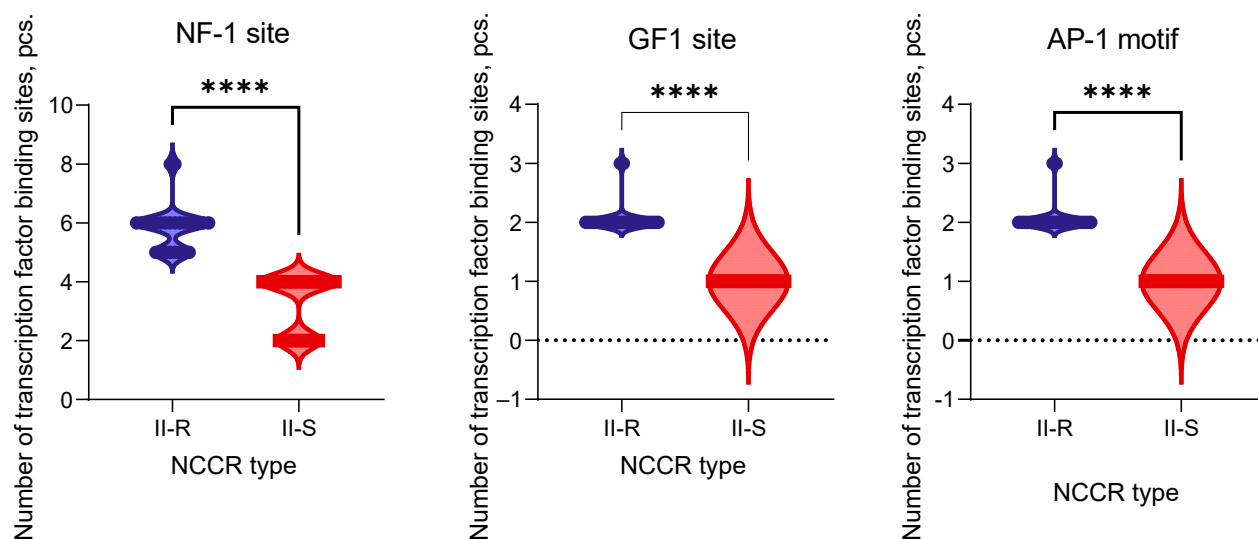


Fig. 2. Comparative analysis of the occurrence of putative binding sites for transcription factors NF-1, GF1, and AP-1 in JCPyV NCCR in MS patients treated with natalizumab.

22 II-S archetype-like NCCR samples and 26 II-R rearranged NCCR samples were analyzed. **** $p < 0.0001$.

currence between rearranged and archetype-like NCCR variants in different body compartments were found.

The analysis of NCCR variants detected in paired plasma and CSF samples (8 patients) also showed that one NCCR variant was in 3 cases in plasma and CSF (type II in 2 cases, type VI – in 1 case), while in the other cases, there were different (multiple) variants of the virus (**Table 5**).

Discussion

Development of PML in MS patients treated with immunosuppressive agents such as natalizumab re-

quires search for biological factors (predictors) contributing to the risk of development of this serious brain infection [42]. Studying of the structure of the JCPyV NCCR sequence is one of the promising approaches. During this study, for the first time in Russia, JCPyV NCCR sequences were analyzed and the unique pattern of duplications of NCCR segments was identified, having no homology with NCCR sequences, which were described earlier.

NCCR is a hypervariable regulatory JCPyV region approximately 400 bp long, containing most of the elements required for initiation of early and late

Table 4. Multiple NCCR variants found in MS patients treated with natalizumab

No.	Patient ID	Blood plasma, NCCR type	Cerebrospinal fluid, NCCR type
1	NAT-3	I, II	III
2	NAT-4	II, V	II, VI
3	NAT-8	II, IV, V	H. d. N. d.
4	NAT-9	V, VI	H. d. N. d.
5	NAT-10	II, IV, VI	VI
6	NAT-13	V, VI	H. d. N. d.
7	NAT-14	II, VI	H. d. N. d.
8	NAT-15	II, V	III, V, VI
9	NAT-18	II, III, VI	I, II
10	NAT-19	III, VI	H. d. N. d.
11	NAT-21	V, VI	H. d. N. d.
12	NAT-22	III, V	H. d. N. d.

Note. N. d. — no data.

Table 5. NCCR variants detected in paired plasma and cerebrospinal fluid samples from MS patients treated with natalizumab

No.	Patient ID	Blood plasma, NCCR type	Cerebrospinal fluid, NCCR type
1	NAT-1	II	II
2	NAT-2	VI	VI
3	NAT-3	I, II	III
4	NAT-4	II, V	II, VI
5	NAT-5	II	II
6	NAT-10	II, IV, VI	VI
7	NAT-15	II, V	III, V, VI
8	NAT-18	II, III, VI	I, II

transcription and viral gene expression, including TA-TA boxes and transcription factor binding sites [2]. The archetype NCCR JCPyV is divided into 6 segments – A, B, C, D, E, and F composed of 25, 23, 55, 66, 18, and 69 bp, respectively [11]. Neurovirulent JCPyV NCCRs are rearranged. For example, the prototype JCPyV NCCR sequence, known as Mad-1, which was first isolated from a PML patient [12, 38], has deletions in segment D and consists only of segments A, C, and E represented by 98-bp tandem repeats followed by segment F [43–45]. There are multiple rearranged JCPyV isolates [46], including other Mad-isolates, which were obtained from tissues of PML patients [47], for example, Mad-8, which is identical to Mad-1 in its segmental composition, but contains part of segment B as well as single insertions. At the same time, the Mad-8 variant is more common among NCCRs found in PML patients than Mad-1 [43, 47, 48].

As is known, JCPyV NCCRs are classified into four groups [49]: I-S, I-R (like Mad-1 and Mad-4), II-S and II-R (like Mad-7 and Mad-8). NCCRs of type I do not contain insertions, while NCCRs of type II contain an insertion of at least a portion of the sequence from one of the sections B or D. Subtypes S (for singular) do not contain segments, while subtypes R (for repeat) have them. NCCRs of type II-S are referred to as archetypes or archetype-like if they contain deletions. NCCRs of type II-R are generally referred to as rearranged NCCRs [49].

Our study has revealed that up to 55% of JCPyV NCCRs in MS patients treated with natalizumab belong to rearranged NCCRs of subtype II-R, while the other represent archetype-like subtypes II-S. Our findings slightly differ from the previously published data, where up to 80–100% of NCCRs identified in CSF samples and/or plasma/serum samples from patients having PML or treated with natalizumab belong to rearranged NCCRs of subtype II-R [31, 50, 51]. In addition, the analysis of NCCR sequences in MS patients treated with natalizumab revealed only 4 NCCR rearrangement patterns (types I–IV) and 2 archetype-like patterns (types V and VI; Table 2). These findings differ

from those reported earlier by Reid et al., showing that each PML patient had a unique set of deletions and duplications within NCCR [50]. Types I and III are unique rearranged NCCRs, which were detected for the first time. NCCR variants of type IV were described earlier for patients with primary immunodeficiency syndrome, PML and MS patients treated with natalizumab [50–53]. Shortened NCCRs were also described earlier in MS patients treated with natalizumab [50].

NCCR of type II is most common among samples of rearranged NCCRs, having been detected in more than 30% of cases (16 of 48); it is considered rare and has been found only in 1.7% (17 of 989) of the studied cases worldwide [46]. Previously, such NCCRs were found only in CSF [46], while in our study, more than 80% of such NCCRs were found in plasma from MS patients treated with natalizumab.

Mutations in rearranged NCCRs are complex and, most likely, owe their existence to homologous recombination, which leads to large deletions and tandem duplications of segments in NCCR [43], like it was observed in NCCRs detected during our study.

The comparative analysis has shown that flanking segments A and F have never been affected during the rearrangement, except for NCCR of type III, where part of segment F was removed. These findings correlate with NCCR rearrangements found in PML patients treated with natalizumab [50].

Duplicated segment B is often detected as a portion of relatively long tandem or single repeats (BCDE or BC in our study) in rearranged JCPyV NCCRs in MS patients treated with natalizumab. The similar duplications of segment B (partial or full-length) were detected in Mad-8 JCPyV NCCR sequences found in brain tissues from PML patients [47], in Mad-8 JCPyV NCCR sequences from tonsil tissues of children [40] and in some NCCRs in PML patients treated with natalizumab [50, 51, 55]. Only NCCR of type IV contained the only copy of segment B.

Note that segment C was always duplicated in rearranged JCPyV NCCRs of the studied cohorts treated

with natalizumab, as a portion of relatively long repeats (BCDE or BC) in NCCR of type I-type III or as a single duplication in NCCR of type IV. Duplications of segment C are typical of many NCCRs found in patients with primary immunodeficiency syndrome, PML and MS patients treated with natalizumab [50–53].

Note that segment D was present in all NCCRs from MS patients treated with natalizumab. This observation differs from the previous reports describing its complete or partial absence in NCCRs from plasma and/or CSF of PML patients treated with natalizumab [46, 50]. Most of the NCCRs detected during the study had an identical unique deletion 6 bp long (AAACCA) in segment D. This deletion was detected in 41 of 48 NCCR sequences obtained from plasma and CSF samples in all types of NCCRs (rearranged and archetype-like), except for shortened NCCRs (7 of 48), which belonged to type V. It should be noted that when this deletion was present in the repeated fragment BCDE, it was common for all copies, thus leading to the assumption that the deletion occurred prior to the duplication, as it was assumed previously [50, 55]. Apparently, this unique deletion is caused by natalizumab in the studied cohort (the result of the selective pressure caused by natalizumab treatment), as it was found in most of the analyzed NCCR sequences; however, it was absent in NCCRs from plasma and CSF from the patient with primary immunodeficiency.

Segment E was present in all NCCRs in MS patients treated with natalizumab. In NCCRs of types I and II, it was duplicated as part of relatively long repeat BCDE. This observation correlates with the previously described NCCR structures in PML patients [47, 50, 51, 54]. NCCRs of type III had the only copy of segment E.

High frequency of repeats in NCCR sequences results in the increasing number of enhancer elements, which presumably are of critical importance for viral pathogenesis [46]. Each BCDE-fragment contains several enhancer elements, including binding sites of transcription factors NF1, CRE-TAR, GA-domain (the binding site of the SP-1 transcription factor), GF-1, AP-1, etc. (Table 3). It is known that these enhancer elements modulate transcription, expression, and replication of JCPyV as well as its tropism [13, 44, 56–61].

Our analysis has shown that segment D contains several enhancer elements, including 4 binding sites, TFIID, TBP, TEF-1, and c-Fos, which were predicted by the PROMO tool [35, 36]. The unique 6-bp deletion (AAACCA) detected in segment D caused the loss of the predicted c-Fos binding site (the prediction was made for the human factor and viral sites) compared to the archetype sequence. c-Fos is a nuclear phosphoprotein, which forms a tight, but not covalently linked complex with the JUN/AP-1 transcription factor [62, 63]. c-Fos is expressed with low tissue specificity and is found almost in

all body compartments². It is known that c-Fos activates JCPyV early and late promoters [64]; therefore, the loss of this putative binding site in segment D may not result in switchover to the neurovirulent variant; however, this circumstance requires further research.

It should be noted that multiple NCCR variants were found in 12 MS patients treated with natalizumab; the variants detected in plasma and CSF from one patient were different. Earlier, it was found that in a human body, JCPyV existed as a quasispecies (i.e. the population of closely related species), which was common for CSF and plasma from one patient [53]. In the meantime, in most of the paired samples, NCCR variants detected in plasma and CSF were different. It is known that bone marrow cells and respective B lymphocytes are seen as potential sites for neurotropic transformation of JCPyV due to inherent capability of DNA rearranging, which can contribute to emergence of rearranged JCPyV variants [65–67]. It was also assumed that both lymphocytes infected with the virus and the cell-free virus participated in the spread of the virus by crossing the blood-brain barrier [67–70]. Most likely, rearrangements in JCPyV NCCRs in the infected lymphocytes that crossed the blood-brain barrier continue, leading to the emergence of NCCR variants in CSF, which differ (completely or partially) from those that are detected in plasma.

The changeover of JCPyV genotypes, which we observed in paired samples from two patients (NAT-10 and NAT-15), demonstrates that in immunosuppressive conditions (associated with natalizumab treatment), JCPyV is highly variable not only in the NCCR region, but also in the region encoding VP1. The existence of multiple JCPyV variants, their different compartmentalization in the body of the patient as well as the changeover of JCPyV genotypes over time and depending on the analyzed body compartment (plasma or CSF) are associated with the processes, during which the virus is continuously adapting to its cellular environment, as it was also described by other researchers [53].

Conclusion

The study has for the first time identified NCCR patterns typical of MS patients treated with natalizumab in Russia and detected a new rearranged NCCR variant; it has also highlighted the pressing need for further research on JCPyV NCCR rearrangements in MS patients treated with natalizumab to gain a new insight into the origin of neurovirulent JCPyV variants. In future, identification of JCPyV NCCR rearrangements can improve PML risk stratification, expedite diagnostic tests, and optimize the healthcare resource utilization, contributing to the reduction of direct and indirect costs associated with the MS disease.

² URL: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000170345-FOS/tissue>

REFERENCES

- Wharton K.A. Jr., Quigley C., Themeles M., Dunstan R.W., Doyle K., Cahir-McFarland E., et al. JC Polyomavirus abundance and distribution in progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) brain tissue implicates myelin sheath in intracerebral dissemination of infection. *PLoS One*. 2016; 11(5): e0155897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155897>
- Marshall L.J., Major E.O. Molecular regulation of JC virus tropism: insights into potential therapeutic targets for progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neuroimmune. Pharmacol.* 2010; 5(3): 404–17. <https://doi.org/10.1007/s11481-010-9203-1>
- Frisque R.J. Structure and function of JC virus T' proteins. *J. Neurovirol.* 2001; 7(4): 293–7. <https://doi.org/10.1080/13550280152537120>
- Prins C., Frisque R.J. JC virus T' proteins encoded by alternatively spliced early mRNAs enhance T antigen-mediated viral DNA replication in human cells. *J. Neurovirol.* 2001; 7(3): 250–64. <https://doi.org/10.1080/13550280152403290>
- Gasparovic M.L., Gee G.V., Atwood W.J. JC virus minor capsid proteins Vp2 and Vp3 are essential for virus propagation. *J. Virol.* 2006; 80(21): 10858–61. <https://doi.org/10.1128/JVI.01298-06>
- Del Valle L., Piña-Oviedo S. HIV disorders of the brain: pathology and pathogenesis. *Front. Biosci.* 2006; 11(1): 718–32. <https://doi.org/10.2741/1830>
- Major E.O. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Annu. Rev. Med.* 2010; 61(1): 35–47. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.080708.082655>
- White M.K., Khalili K. Pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy – revisited. *J. Infect. Dis.* 2011; 203(5): 578–86. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq097>
- Delbue S., Ferrareso M., Ghio L., Carloni C., Carluccio S., Belingeri M., et al. A review on JC virus infection in kidney transplant recipients. *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 926391. <https://doi.org/10.1155/2013/926391>
- Kmiecik D., Debicki S., Trzeciak W.H. Occurrence rate and genotype distribution of the JC virus (JCV) in a sample from the Polish population. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6): 1079–83. <https://doi.org/10.1002/jmv.21153>
- Yogo Y., Kitamura T., Sugimoto C., Ueki T., Aso Y., Hara K., et al. Isolation of a possible archetypal JC virus DNA sequence from nonimmunocompromised individuals. *J. Virol.* 1990; 64(6): 3139–43. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.6.3139-3143.1990>
- Frisque R.J., Bream G.L., Cannella M.T. Human polyomavirus JC virus genome. *J. Virol.* 1984; 51(2): 458–69. <https://doi.org/10.1128/JVI.51.2.458-469.1984>
- Marshall L.J., Dunham L., Major E.O. Transcription factor Spi-B binds unique sequences present in the tandem repeat promoter/enhancer of JC virus and supports viral activity. *J. Gen. Virol.* 2010; 91(Pt. 12): 3042–52. <https://doi.org/10.1099/vir.0.023184-0>
- Gosert R., Kardas P., Major E.O., Hirsch H.H. Rearranged JC virus noncoding control regions found in progressive multifocal leukoencephalopathy patient samples increase virus early gene expression and replication rate. *J. Virol.* 2010; 84(20): 10448–56. <https://doi.org/10.1128/JVI.00614-10>
- Daniel A.M., Swenson J.J., Mayreddy R.P., Khalili K., Frisque R.J. Sequences within the early and late promoters of archetypal JC virus restrict viral DNA replication and infectivity. *Virology.* 1996; 216(1): 90–101. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0037>
- McGuigan C., Craner M., Guadagno J., Kapoor R., Mazibrada G., Molyneux P., et al. Stratification and monitoring of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy risk: recommendations from an expert group. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2016; 87(2): 117–25. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-311100>
- Carson K.R., Evens A.M., Richey E.A., Habermann T.M., Focosi D., Seymour J.F., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood.* 2009; 113(20): 4834–40. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-186999>
- Diebold M., Altersberger V., Décard B.F., Kappos L., Derfuss T., Lorscheider J. A case of progressive multifocal leukoencephalopathy under dimethyl fumarate treatment without severe lymphopenia or immunosenescence. *Mult. Scler.* 2019; 25(12): 1682–5. <https://doi.org/10.1177/1352458519852100>
- Berger J.R., Cree B.A., Greenberg B., Hemmer B., Ward B.J., Dong V.M., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after fingolimod treatment. *Neurology.* 2018; 90(20): e1815–21. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000005529>
- Schwab N., Ulzheimer J.C., Fox R.J., Schneider-Hohendorf T., Kieseier B.C., Monoranu C.M., et al. Fatal PML associated with efalizumab therapy: insights into integrin α L β 2 in JC virus control. *Neurology.* 2012; 78(7): 458–67; discussion 465. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182478d4b>
- Carson K.R., Newsome S.D., Kim E.J., Wagner-Johnston N.D., von Geldern G., Moskowitz C.H., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with brentuximab vedotin therapy: A report of 5 cases from the Southern Network on Adverse Reactions (SONAR) project: Brentuximab-Associated PML. *Cancer.* 2014; 120(16): 2464–71. <https://doi.org/10.1002/cncr.28712>
- Vukusic S., Rollot F., Casey R., Pique J., Marignier R., Mathy G., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy incidence and risk stratification among natalizumab users in France. *JAMA Neurol.* 2020; 77(1): 94–102. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.2670>
- Campagnolo D., Dong Q., Lee L., Ho P.R., Amarante D., Koendgen H. Statistical analysis of PML incidences of natalizumab-treated patients from 2009 to 2016: outcomes after introduction of the Stratify JCV® DxSelect™ antibody assay. *J. Neurovirol.* 2016; 22(6): 880–1. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0482-z>
- Datapharm. Physician information and management guidelines for patients with multiple sclerosis receiving TYSABRI therapy. Available at: <https://www.medicines.org.uk/emc/rmm/2196/Document>
- Gorelik L., Lerner M., Bixler S., Crossman M., Schlain B., Simon K., et al. Anti-JC virus antibodies: implications for PML risk stratification: Anti-JCV Antibodies. *Ann. Neurol.* 2010; 68(3): 295–303. <https://doi.org/10.1002/ana.22128>
- Viscidi R.P., Khanna N., Tan C.S., Li X., Jacobson L., Clifford D.B., et al. JC virus antibody and viremia as predictors of progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 53(7): 711–5. <https://doi.org/10.1093/cid/cir507>
- Bloomgren G., Richman S., Hotermans C., Subramanyan M., Goelz S., Natarajam A., et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Surv. Anesthesiol.* 2012; 56(6): 329–30. <https://doi.org/10.1097/01.sa.0000422027.26626.8d>
- Sindic C.J., Trebst C., Van Antwerpen M.P., Frye S., Enzensberger W., Hunsmann G., et al. Detection of CSF-specific oligoclonal antibodies to recombinant JC virus VP1 in patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neuroimmunol.* 1997; 76(1-2): 100–4. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(97\)00037-4](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(97)00037-4)
- Khanna N., Wolbers M., Mueller N.J., Garzoni C., Du Pasquier R.A., Fux C.A., et al. JC virus-specific immune responses in human immunodeficiency virus type 1 patients with progressive

- multifocal leukoencephalopathy. *J. Virol.* 2009; 83(9): 4404–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.02657-08>
30. Prezioso C., Zingaropoli M.A., Iannetta M., Rodio D.M., Altieri M., Conte A., et al. Which is the best PML risk stratification strategy in natalizumab-treated patients affected by multiple sclerosis? *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020; 41(102008): 102008. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102008>
 31. L'Honneur A.S., Leh H., Laurent-Tchenio F., Hazan U., Rozenberg F., Bury-Moné S. Exploring the role of NCCR variation on JC polyomavirus expression from dual reporter minicircles. *PLoS One.* 2018; 13(6): e0199171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199171>
 32. Kato A., Sugimoto C., Zheng H.Y., Kitamura T., Yogo Y. Lack of disease-specific amino acid changes in the viral proteins of JC virus isolates from the brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch. Virol.* 2000; 145(10): 2173–82. <https://doi.org/10.1007/s007050070047>
 33. Pagani E., Delbue S., Mancuso R., Borghi E., Tarantini L., Ferrante P. Molecular analysis of JC virus genotypes circulating among the Italian healthy population. *J. Neurovirol.* 2003; 9(5): 559–66. <https://doi.org/10.1080/13550280390241269>
 34. Kumar S., Stecher G., Tamara K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
 35. Messeguer X., Escudero R., Farré D., Núñez O., Martínez J., Albà M.M. PROMO: detection of known transcription regulatory elements using species-tailored searches. *Bioinformatics.* 2002; 18(2): 333–4. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.2.333>
 36. Farré D., Roset R., Huerta M., Adsuara J.E., Roselló L., Albà M.M., et al. Identification of patterns in biological sequences at the ALGGEN server: PROMO and MALGEN. *Nucleic Acids. Res.* 2003; 31(13): 3651–3. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg605>
 37. Hirsch H.H., Kardas P., Kranz D., Leboeuf C. The human JC polyomavirus (JCPyV): virological background and clinical implications. *APMIS.* 2013; 121(8): 685–727. <https://doi.org/10.1111/apm.12128>
 38. Padgett B., Zurhein G., Walker D., Eckroade R., Dessel B. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet.* 1971; 297(7712): 1257–60. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(71\)91777-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(71)91777-6)
 39. Marshall L.J., Moore L.D., Mirsky M.M., Major E.O. JC virus promoter/enhancers contain TATA box-associated Spi-B-binding sites that support early viral gene expression in primary astrocytes. *J. Gen. Virol.* 2012; 93(Pt. 3): 651–61. <https://doi.org/10.1099/vir.0.035832-0>
 40. Monaco M.C., Jensen P.N., Hou J., Durham L.C., Major E.O. Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection. *J. Virol.* 1998; 72(12): 9918–23. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.12.9918-9923.1998>
 41. Naess H., Glad S., Storstein A., Rinaldo C.H., Mørk S.J., Myhr K.M., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in an immunocompetent patient with favourable outcome. A case report. *BMC Neurol.* 2010; 10: 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-10-32>
 42. Pavlovic D., Patera A.C., Nyberg F., Gerber M., Liu M. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Consortium. Progressive multifocal leukoencephalopathy: current treatment options and future perspectives. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2015; 8(6): 255–73. <https://doi.org/10.1177/1756285615602832>
 43. Cortese I., Reich D.S., Nath A. Progressive multifocal leukoencephalopathy and the spectrum of JC virus-related disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2021; 17(1): 37–51. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00427-y>
 44. Ferenczy M.W., Marshall L.J., Nelson C.D.S., Atwood W.J., Nath A., Khalili K., et al. Molecular biology, epidemiology, and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012; 25(3): 471–506. <https://doi.org/10.1128/CMR.05031-11>
 45. Ciardi M.R., Zingaropoli M.A., Iannetta M., Prezioso C., Perri V., Pasculli P., et al. JCPyV NCCR analysis in PML patients with different risk factors: exploring common rearrangements as essential changes for neuropathogenesis. *Virol. J.* 2020; 17(1): 23. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-1295-5>
 46. Wilczek M.P., Pike A.M.C., Craig S.E., Maginnis M.S., King B.L. Rearrangement in the hypervariable region of JC Polyomavirus genomes isolated from patient samples and impact on transcription factor-binding sites and disease outcomes. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(10): 5699. <https://doi.org/10.3390/ijms23105699>
 47. Martin J.D., King D.M., Slauch J.M., Frisque R.J. Differences in regulatory sequences of naturally occurring JC virus variants. *J. Virol.* 1985; 53(1): 306–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.53.1.306-311.1985>
 48. Martin J.D., Foster G.C. Multiple JC virus genomes from one patient. *J. Gen. Virol.* 1984; 65(Pt. 8): 1405–11. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-65-8-1405>
 49. Jensen P.N., Major E.O. A classification scheme for human polyomavirus JCV variants based on the nucleotide sequence of the noncoding regulatory region. *J. Neurovirol.* 2001; 7(4): 280–7. <https://doi.org/10.1080/13550280152537102>
 50. Reid C.E., Li H., Sur G., Carmillo P., Bushnell S., Tizard R., et al. Sequencing and analysis of JC virus DNA from natalizumab-treated PML patients. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): 237–44. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir256>
 51. Marshall L.J., Ferenczy M.W., Daley E.L., Jensen P.N., Ryschkewitsch C.F., Major E.O. Lymphocyte gene expression and JC virus noncoding control region sequences are linked with the risk of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Virol.* 2014; 88(9): 5177–83. <https://doi.org/10.1128/JVI.03221-13>
 52. Nakamichi K., Tajima S., Lim C.K., Saijo M. High-resolution melting analysis for mutation scanning in the non-coding control region of JC polyomavirus from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch. Virol.* 2014; 159(7): 1687–96. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-1988-4>
 53. Van Loy T., Thys K., Ryschkewitsch C., Lagatie O., Monaco M.C., Major E.O., et al. JC virus quasispecies analysis reveals a complex viral population underlying progressive multifocal leukoencephalopathy and supports viral dissemination via the hematogenous route. *J. Virol.* 2015; 89(2): 1340–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.02565-14>
 54. Muiño E., Rubio M.A., Navalpotro I., Munteis E. Progressive multifocal leukoencephalopathy in an immunocompetent patient. *Neurologia.* 2017; 32(5): 337–9. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2015.08.011>
 55. Johnson E.M., Wortman M.J., Dagdanova A.V., Lundberg P.S., Daniel D.C. Polyomavirus JC in the context of immunosuppression: a series of adaptive, DNA replication-driven recombination events in the development of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 197807. <https://doi.org/10.1155/2013/197807>
 56. Kumar K.U., Devireddy L.R., Tang S.C., Pater A., Pater M.M. Human JC virus nuclear factor 1 binding motifs and large tumor antigen region required for transactivation of late promoter. *J. Neurochem.* 2002; 67(2): 473–81. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.67020473.x>
 57. Mason S., Piper M., Gronostajski R.M., Richards L.J. Nuclear factor one transcription factors in CNS development. *Mol. Neurobiol.* 2009; 39(1): 10–23. <https://doi.org/10.1007/s12035-008-8048-6>
 58. Rodio D.M., Anzivino E., Mischitelli M., Bellizzi A., Scrivo R., Scribano D., et al. Increased prevalence of human Polyomavirus

- JC viruria in chronic inflammatory rheumatic diseases patients in treatment with anti-TNF α : A 18 month follow-up study. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 672. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00672>
59. Sumner C., Shinohara T., Durham L., Traub R., Major E.O., Amemiya K. Expression of multiple classes of the nuclear factor-1 family in the developing human brain: differential expression of two classes of NF-1 genes. *J. Neurovirol.* 1996; 2(2): 87–100. <https://doi.org/10.3109/13550289609146542>
 60. Ravichandran V., Sabath B.F., Jensen P.N., Houff S.A., Major E.O. Interactions between c-Jun, nuclear factor 1, and JC virus promoter sequences: Implications for viral tropism. *J. Virol.* 2006; 80(21): 10506–13. <https://doi.org/10.1128/jvi.01355-06>
 61. Chen N.N., Kerr D., Chang C.F., Honjo T., Khalili K. Evidence for regulation of transcription and replication of the human neurotropic virus JCV genome by the human S(mu)bp-2 protein in glial cells. *Gene.* 1997; 185(1): 55–62. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(96\)00630-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(96)00630-0)
 62. Angel P., Karin M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim. Biophys. Acta. Rev. Cancer.* 1991; 1072(2-3): 129–57. [https://doi.org/10.1016/0304-419x\(91\)90011-9](https://doi.org/10.1016/0304-419x(91)90011-9)
 63. Wisdom R. AP-1: one switch for many signals. *Exp. Cell. Res.* 1999; 253(1): 180–5. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4685>
 64. Sadowska B., Barrucco R., Khalili K., Safak M. Regulation of human Polyomavirus JC virus gene transcription by AP-1 in glial cells. *J. Virol.* 2003; 77(1): 665–72. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.1.665-672.2003>
 65. Houff S.A., Major E.O., Katz D.A., Kufta C.V., Sever J.L., Pitaluga S., et al. Involvement of JC virus-infected mononuclear cells from the bone marrow and spleen in the pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318(5): 301–5. <https://doi.org/10.1056/NEJM198802043180507>
 66. Marzocchetti A., Wuthrich C., Tan C.S., Tompkins T., Bernal-Cano F., Bhargava P., et al. Rearrangement of the JC virus regulatory region sequence in the bone marrow of a patient with rheumatoid arthritis and progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neurovirol.* 2008; 14(5): 455–8. <https://doi.org/10.1080/13550280802356837>
 67. Monaco M.C., Atwood W.J., Gravell M., Tornatore C.S., Major E.O. JC virus infection of hematopoietic progenitor cells, primary B lymphocytes, and tonsillar stromal cells: implications for viral latency. *J. Virol.* 1996; 70(10): 7004–12. <https://doi.org/10.1128/JVI.70.10.7004-7012.1996>
 68. Chapagain M.L., Verma S., Mercier F., Yanagihara R., Nerurkar V.R. Polyomavirus JC infects human brain microvascular endothelial cells independent of serotonin receptor 2A. *Virology.* 2007; 364(1): 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.02.018>
 69. Chapagain M.L., Nerurkar V.R. Human polyomavirus JC (JCV) infection of human B lymphocytes: a possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(2): 184–91. <https://doi.org/10.1086/653823>
 70. Tornatore C., Berger J.R., Houff S.A., Curfman B., Meyers K., Winfield D., et al. Detection of JC virus DNA in peripheral lymphocytes from patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann. Neurol.* 1992; 31(4): 454–62. <https://doi.org/10.1002/ana.410310426>
- СПИСОК ИСТОЧНИКОВ
1. Wharton K.A. Jr., Quigley C., Themeles M., Dunstan R.W., Doyle K., Cahir-McFarland E., et al. JC Polyomavirus abundance and distribution in progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) brain tissue implicates myelin sheath in intracerebral dissemination of infection. *PLoS One.* 2016; 11(5): e0155897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155897>
 2. Marshall L.J., Major E.O. Molecular regulation of JC virus tropism: insights into potential therapeutic targets for progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neuroimmune. Pharmacol.* 2010; 5(3): 404–17. <https://doi.org/10.1007/s11481-010-9203-1>
 3. Frisque R.J. Structure and function of JC virus T' proteins. *J. Neurovirol.* 2001; 7(4): 293–7. <https://doi.org/10.1080/13550280152537120>
 4. Prins C., Frisque R.J. JC virus T' proteins encoded by alternatively spliced early mRNAs enhance T antigen-mediated viral DNA replication in human cells. *J. Neurovirol.* 2001; 7(3): 250–64. <https://doi.org/10.1080/13550280152403290>
 5. Gasparovic M.L., Gee G.V., Atwood W.J. JC virus minor capsid proteins Vp2 and Vp3 are essential for virus propagation. *J. Virol.* 2006; 80(21): 10858–61. <https://doi.org/10.1128/JVI.01298-06>
 6. Del Valle L., Piña-Oviedo S. HIV disorders of the brain: pathology and pathogenesis. *Front. Biosci.* 2006; 11(1): 718–32. <https://doi.org/10.2741/1830>
 7. Major E.O. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Annu. Rev. Med.* 2010; 61(1): 35–47. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.080708.082655>
 8. White M.K., Khalili K. Pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy – revisited. *J. Infect. Dis.* 2011; 203(5): 578–86. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq097>
 9. Delbue S., Ferrarasso M., Ghio L., Carloni C., Carluccio S., Bellingheri M., et al. A review on JC virus infection in kidney transplant recipients. *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 926391. <https://doi.org/10.1155/2013/926391>
 10. Kmiecik D., Debicki S., Trzeciak W.H. Occurrence rate and genotype distribution of the JC virus (JCV) in a sample from the Polish population. *J. Med. Virol.* 2008; 80(6): 1079–83. <https://doi.org/10.1002/jmv.21153>
 11. Yogo Y., Kitamura T., Sugimoto C., Ueki T., Aso Y., Hara K., et al. Isolation of a possible archetypal JC virus DNA sequence from nonimmunocompromised individuals. *J. Virol.* 1990; 64(6): 3139–43. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.6.3139-3143.1990>
 12. Frisque R.J., Bream G.L., Cannella M.T. Human polyomavirus JC virus genome. *J. Virol.* 1984; 51(2): 458–69. <https://doi.org/10.1128/JVI.51.2.458-469.1984>
 13. Marshall L.J., Dunham L., Major E.O. Transcription factor Spi-B binds unique sequences present in the tandem repeat promoter/enhancer of JC virus and supports viral activity. *J. Gen. Virol.* 2010; 91(Pt. 12): 3042–52. <https://doi.org/10.1099/vir.0.023184-0>
 14. Gosert R., Kardas P., Major E.O., Hirsch H.H. Rearranged JC virus noncoding control regions found in progressive multifocal leukoencephalopathy patient samples increase virus early gene expression and replication rate. *J. Virol.* 2010; 84(20): 10448–56. <https://doi.org/10.1128/JVI.00614-10>
 15. Daniel A.M., Swenson J.J., Mayreddy R.P., Khalili K., Frisque R.J. Sequences within the early and late promoters of archetypal JC virus restrict viral DNA replication and infectivity. *Virology.* 1996; 216(1): 90–101. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0037>
 16. McGuigan C., Craner M., Guadagno J., Kapoor R., Mazibrada G., Molyneux P., et al. Stratification and monitoring of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy risk: recommendations from an expert group. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2016; 87(2): 117–25. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2015-311100>
 17. Carson K.R., Evens A.M., Richey E.A., Habermann T.M., Focosi D., Seymour J.F., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events

- and Reports project. *Blood*. 2009; 113(20): 4834–40. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-186999>
18. Diebold M., Altersberger V., Décard B.F., Kappos L., Derfuss T., Lorscheider J. A case of progressive multifocal leukoencephalopathy under dimethyl fumarate treatment without severe lymphopenia or immunosenescence. *Mult. Scler.* 2019; 25(12): 1682–5. <https://doi.org/10.1177/1352458519852100>
 19. Berger J.R., Cree B.A., Greenberg B., Hemmer B., Ward B.J., Dong V.M., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after fingolimod treatment. *Neurology*. 2018; 90(20): e1815–21. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000005529>
 20. Schwab N., Ulzheimer J.C., Fox R.J., Schneider-Hohendorf T., Kieseier B.C., Monoranu C.M., et al. Fatal PML associated with efalizumab therapy: insights into integrin α L β 2 in JC virus control. *Neurology*. 2012; 78(7): 458–67; discussion 465. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182478d4b>
 21. Carson K.R., Newsome S.D., Kim E.J., Wagner-Johnston N.D., von Geldern G., Moskowitz C.H., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with brentuximab vedotin therapy: A report of 5 cases from the Southern Network on Adverse Reactions (SONAR) project: Brentuximab-Associated PML. *Cancer*. 2014; 120(16): 2464–71. <https://doi.org/10.1002/encr.28712>
 22. Vukusic S., Rollet F., Casey R., Pique J., Marignier R., Mathy G., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy incidence and risk stratification among natalizumab users in France. *JAMA Neurol.* 2020; 77(1): 94–102. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.2670>
 23. Campagnolo D., Dong Q., Lee L., Ho P.R., Amarante D., Koendgen H. Statistical analysis of PML incidences of natalizumab-treated patients from 2009 to 2016: outcomes after introduction of the Stratify JCV® DxSelect™ antibody assay. *J. Neurovirol.* 2016; 22(6): 880–1. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0482-z>
 24. Datapharm. Physician information and management guidelines for patients with multiple sclerosis receiving TYSABRI therapy. Available at: <https://www.medicines.org.uk/emc/rmm/2196/Document>
 25. Gorelik L., Lerner M., Bixler S., Crossman M., Schlain B., Simon K., et al. Anti-JC virus antibodies: implications for PML risk stratification: Anti-JCV Antibodies. *Ann. Neurol.* 2010; 68(3): 295–303. <https://doi.org/10.1002/ana.22128>
 26. Viscidi R.P., Khanna N., Tan C.S., Li X., Jacobson L., Clifford D.B., et al. JC virus antibody and viremia as predictors of progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 53(7): 711–5. <https://doi.org/10.1093/cid/cir507>
 27. Bloomgren G., Richman S., Hotermans C., Subramanyan M., Goelz S., Natarajam A., et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Surv. Anesthesiol.* 2012; 56(6): 329–30. <https://doi.org/10.1097/01.sa.0000422027.26626.8d>
 28. Sindic C.J., Trebst C., Van Antwerpen M.P., Frye S., Enzensberger W., Hunsmann G., et al. Detection of CSF-specific oligoclonal antibodies to recombinant JC virus VP1 in patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neuroimmunol.* 1997; 76(1-2): 100–4. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(97\)00037-4](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(97)00037-4)
 29. Khanna N., Wolbers M., Mueller N.J., Garzoni C., Du Pasquier R.A., Fux C.A., et al. JC virus-specific immune responses in human immunodeficiency virus type 1 patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Virol.* 2009; 83(9): 4404–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.02657-08>
 30. Prezioso C., Zingaropoli M.A., Iannetta M., Rodio D.M., Altieri M., Conte A., et al. Which is the best PML risk stratification strategy in natalizumab-treated patients affected by multiple sclerosis? *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020; 41(102008): 102008. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102008>
 31. L'Honneur A.S., Leh H., Laurent-Tchenio F., Hazan U., Rozenberg F., Bury-Moné S. Exploring the role of NCCR variation on JC polyomavirus expression from dual reporter minicircles. *PLoS One*. 2018; 13(6): e0199171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199171>
 32. Kato A., Sugimoto C., Zheng H.Y., Kitamura T., Yogo Y. Lack of disease-specific amino acid changes in the viral proteins of JC virus isolates from the brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch. Virol.* 2000; 145(10): 2173–82. <https://doi.org/10.1007/s007050070047>
 33. Pagani E., Delbue S., Mancuso R., Borghi E., Tarantini L., Ferrante P. Molecular analysis of JC virus genotypes circulating among the Italian healthy population. *J. Neurovirol.* 2003; 9(5): 559–66. <https://doi.org/10.1080/13550280390241269>
 34. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
 35. Messeguer X., Escudero R., Farré D., Núñez O., Martínez J., Albà M.M. PROMO: detection of known transcription regulatory elements using species-tailored searches. *Bioinformatics*. 2002; 18(2): 333–4. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.2.333>
 36. Farré D., Roset R., Huerta M., Adsua J.E., Roselló L., Albà M.M., et al. Identification of patterns in biological sequences at the ALGGEN server: PROMO and MALGEN. *Nucleic. Acids. Res.* 2003; 31(13): 3651–3. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg605>
 37. Hirsch H.H., Kardas P., Kranz D., Leboeuf C. The human JC polyomavirus (JCPyV): virological background and clinical implications. *APMIS*. 2013; 121(8): 685–727. <https://doi.org/10.1111/apm.12128>
 38. Padgett B., Zurhein G., Walker D., Eckroade R., Dessel B. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet*. 1971; 297(7712): 1257–60. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(71\)91777-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(71)91777-6)
 39. Marshall L.J., Moore L.D., Mirsky M.M., Major E.O. JC virus promoter/enhancers contain TATA box-associated Spi-B-binding sites that support early viral gene expression in primary astrocytes. *J. Gen. Virol.* 2012; 93(Pt. 3): 651–61. <https://doi.org/10.1099/vir.0.035832-0>
 40. Monaco M.C., Jensen P.N., Hou J., Durham L.C., Major E.O. Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection. *J. Virol.* 1998; 72(12): 9918–23. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.12.9918-9923.1998>
 41. Naess H., Glad S., Storstein A., Rinaldo C.H., Mørk S.J., Myhr K.M., et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in an immunocompetent patient with favourable outcome. A case report. *BMC Neurol.* 2010; 10: 32. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-10-32>
 42. Pavlovic D., Patera A.C., Nyberg F., Gerber M., Liu M. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Consortium. Progressive multifocal leukoencephalopathy: current treatment options and future perspectives. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2015; 8(6): 255–73. <https://doi.org/10.1177/1756285615602832>
 43. Cortese I., Reich D.S., Nath A. Progressive multifocal leukoencephalopathy and the spectrum of JC virus-related disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2021; 17(1): 37–51. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00427-y>
 44. Ferenczy M.W., Marshall L.J., Nelson C.D.S., Atwood W.J., Nath A., Khalili K., et al. Molecular biology, epidemiology, and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012; 25(3): 471–506. <https://doi.org/10.1128/CMR.05031-11>
 45. Ciardi M.R., Zingaropoli M.A., Iannetta M., Prezioso C., Perri V., Pasculli P., et al. JCPyV NCCR analysis in PML patients with different risk factors: exploring common rearrangements as essential changes for neuropathogenesis. *Virol. J.* 2020; 17(1): 23. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-1295-5>

46. Wilczek M.P., Pike A.M.C., Craig S.E., Maginnis M.S., King B.L. Rearrangement in the hypervariable region of JC Polyomavirus genomes isolated from patient samples and impact on transcription factor-binding sites and disease outcomes. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(10): 5699. <https://doi.org/10.3390/ijms23105699>
47. Martin J.D., King D.M., Slauch J.M., Frisque R.J. Differences in regulatory sequences of naturally occurring JC virus variants. *J. Virol.* 1985; 53(1): 306–11. <https://doi.org/10.1128/JVI.53.1.306-311.1985>
48. Martin J.D., Foster G.C. Multiple JC virus genomes from one patient. *J. Gen. Virol.* 1984; 65(Pt. 8): 1405–11. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-65-8-1405>
49. Jensen P.N., Major E.O. A classification scheme for human polyomavirus JCV variants based on the nucleotide sequence of the noncoding regulatory region. *J. Neurovirol.* 2001; 7(4): 280–7. <https://doi.org/10.1080/13550280152537102>
50. Reid C.E., Li H., Sur G., Carmillo P., Bushnell S., Tizard R., et al. Sequencing and analysis of JC virus DNA from natalizumab-treated PML patients. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2): 237–44. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir256>
51. Marshall L.J., Frenczy M.W., Daley E.L., Jensen P.N., Ryschkewitsch C.F., Major E.O. Lymphocyte gene expression and JC virus noncoding control region sequences are linked with the risk of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Virol.* 2014; 88(9): 5177–83. <https://doi.org/10.1128/JVI.03221-13>
52. Nakamichi K., Tajima S., Lim C.K., Saijo M. High-resolution melting analysis for mutation scanning in the non-coding control region of JC polyomavirus from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch. Virol.* 2014; 159(7): 1687–96. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-1988-4>
53. Van Loy T., Thys K., Ryschkewitsch C., Lagatie O., Monaco M.C., Major E.O., et al. JC virus quasispecies analysis reveals a complex viral population underlying progressive multifocal leukoencephalopathy and supports viral dissemination via the hematogenous route. *J. Virol.* 2015; 89(2): 1340–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.02565-14>
54. Muiño E., Rubio M.A., Navalpotro I., Munteis E. Progressive multifocal leukoencephalopathy in an immunocompetent patient. *Neurologia.* 2017; 32(5): 337–9. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2015.08.011>
55. Johnson E.M., Wortman M.J., Dagdanova A.V., Lundberg P.S., Daniel D.C. Polyomavirus JC in the context of immunosuppression: a series of adaptive, DNA replication-driven recombination events in the development of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 197807. <https://doi.org/10.1155/2013/197807>
56. Kumar K.U., Devireddy L.R., Tang S.C., Pater A., Pater M.M. Human JC virus nuclear factor 1 binding motifs and large tumor antigen region required for transactivation of late promoter. *J. Neurochem.* 2002; 67(2): 473–81. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.67020473.x>
57. Mason S., Piper M., Gronostajski R.M., Richards L.J. Nuclear factor one transcription factors in CNS development. *Mol. Neurobiol.* 2009; 39(1): 10–23. <https://doi.org/10.1007/s12035-008-8048-6>
58. Rodio D.M., Anzivino E., Mischitelli M., Bellizzi A., Scrivo R., Scribano D., et al. Increased prevalence of human Polyomavirus JC viruria in chronic inflammatory rheumatic diseases patients in treatment with anti-TNF α : A 18 month follow-up study. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 672. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00672>
59. Sumner C., Shinohara T., Durham L., Traub R., Major E.O., Amemiya K. Expression of multiple classes of the nuclear factor-1 family in the developing human brain: differential expression of two classes of NF-1 genes. *J. Neurovirol.* 1996; 2(2): 87–100. <https://doi.org/10.3109/13550289609146542>
60. Ravichandran V., Sabath B.F., Jensen P.N., Houff S.A., Major E.O. Interactions between c-Jun, nuclear factor 1, and JC virus promoter sequences: Implications for viral tropism. *J. Virol.* 2006; 80(21): 10506–13. <https://doi.org/10.1128/jvi.01355-06>
61. Chen N.N., Kerr D., Chang C.F., Honjo T., Khalili K. Evidence for regulation of transcription and replication of the human neurotropic virus JCV genome by the human S(mu)bp-2 protein in glial cells. *Gene.* 1997; 185(1): 55–62. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(96\)00630-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(96)00630-0)
62. Angel P., Karin M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim. Biophys. Acta. Rev. Cancer.* 1991; 1072(2-3): 129–57. [https://doi.org/10.1016/0304-419x\(91\)90011-9](https://doi.org/10.1016/0304-419x(91)90011-9)
63. Wisdom R. AP-1: one switch for many signals. *Exp. Cell. Res.* 1999; 253(1): 180–5. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4685>
64. Sadowska B., Barrucco R., Khalili K., Safak M. Regulation of human Polyomavirus JC virus gene transcription by AP-1 in glial cells. *J. Virol.* 2003; 77(1): 665–72. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.1.665-672.2003>
65. Houff S.A., Major E.O., Katz D.A., Kufra C.V., Sever J.L., Pitaluga S., et al. Involvement of JC virus-infected mononuclear cells from the bone marrow and spleen in the pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318(5): 301–5. <https://doi.org/10.1056/NEJM198802043180507>
66. Marzocchetti A., Wuthrich C., Tan C.S., Tompkins T., Bernal-Cano F., Bhargava P., et al. Rearrangement of the JC virus regulatory region sequence in the bone marrow of a patient with rheumatoid arthritis and progressive multifocal leukoencephalopathy. *J. Neurovirol.* 2008; 14(5): 455–8. <https://doi.org/10.1080/13550280802356837>
67. Monaco M.C., Atwood W.J., Gravel M., Tornatore C.S., Major E.O. JC virus infection of hematopoietic progenitor cells, primary B lymphocytes, and tonsillar stromal cells: implications for viral latency. *J. Virol.* 1996; 70(10): 7004–12. <https://doi.org/10.1128/JVI.70.10.7004-7012.1996>
68. Chapagain M.L., Verma S., Mercier F., Yanagihara R., Nerurkar V.R. Polyomavirus JC infects human brain microvascular endothelial cells independent of serotonin receptor 2A. *Virology.* 2007; 364(1): 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.02.018>
69. Chapagain M.L., Nerurkar V.R. Human polyomavirus JC (JCV) infection of human B lymphocytes: a possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(2): 184–91. <https://doi.org/10.1086/653823>
70. Tornatore C., Berger J.R., Houff S.A., Curfman B., Meyers K., Winfield D., et al. Detection of JC virus DNA in peripheral lymphocytes from patients with and without progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann. Neurol.* 1992; 31(4): 454–62. <https://doi.org/10.1002/ana.410310426>

Information about the authors

Marina A. Tyumentseva[✉] — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of genome editing, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, tyumentseva@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

Aleksandr I. Tyumentsev — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

Maria N. Zakharova — D. Sci. (Med.), Professor, chief researcher, Head, 6th Department of neurology, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1072-9968>

Lola S. Askarova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 6th Department of neurology, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1606-7245>.

Taras O. Simaniv — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 6th Department of neurology, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7256-2668>

Mikhail A. Piradov — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6338-0392>

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

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.11.2022;
accepted for publication 02.02.2023;
published 09.02.2023

Информация об авторах

Тюменцева Марина Алексеевна[✉] — к.б.н., зав. лаб. геномного редактирования отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, tyumentseva@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>

Тюменцев Александр Игоревич — к.б.н., зав. лаб. экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>

Захарова Мария Николаевна — д.м.н., профессор, г.н.с., рук. 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1072-9968>

Аскарлова Лола Шаекатовна — к.м.н., с.н.с. 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1606-7245>

Симанив Тарас Олегович — к.м.н., с.н.с. 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7256-2668>

Пирадов Михаил Александрович — д.м.н., профессор, академик РАН, директор Научного центра неврологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6338-0392>

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

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.11.2022;
принята к публикации 02.02.2023;
опубликована 09.02.2023

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-326>

Взаимосвязь чувствительности *Candida albicans* к антимикотическим препаратам с архитектурой их сообщества в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов

Несвижский Ю.В.^{1,2✉}, Воропаев А.Д.¹, Афанасьев С.С.², Волчкова Е.В.¹, Афанасьев М.С.¹, Воропаева Е.А.², Сулейманова М.Э.³, Буданова Е.В.¹, Урбан Ю.Н.²

¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

²Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

³Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

Аннотация

Актуальность. Кандидозная инфекция сохраняет свою актуальность в связи с широким распространением резистентных к антимикотическим препаратам штаммов грибов рода *Candida*, особенно среди иммунокомпрометированных лиц. Ранее было обнаружено, что сообщество грибов *Candida* spp. в биотопе ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов отличается определённой архитектурой: они могут присутствовать в данном биотопе в виде монокультуры или ассоциации коизолятов. Предположили, что архитектура сообщества кандид может влиять на их устойчивость к антимикотическим препаратам.

Цель работы — сравнительное исследование взаимосвязи архитектуры сообщества *C. albicans* в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов с орофарингеальным кандидозом и их чувствительности к антимикотическим препаратам.

Материалы и методы. Проведено микробиологическое исследование 52 изолятов грибов рода *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei*) из ротоглотки 31 ВИЧ-инфицированного пациента (возраст 20–69 лет, практически равное гендерное распределение) с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза. В форме монокультур были выделены 18 изолятов, а также 34 коизолята, которые образовали 16 гомогенных ассоциаций, включающих штаммы только одного вида, и 18 — гетерогенных, состоящих из грибов различных видов.

Результаты. Установили, что *C. albicans*, формирующие гетерогенные ассоциации, заметно выделялись по чувствительности к антимикотическим препаратам, в частности, низкой чувствительностью к имидазолам. Штаммы, компоненты гомогенных ассоциаций практически не отличались от монокультурных. Общие свойства популяции *C. non-albicans* были во многом сходны с таковыми *C. albicans*, но она характеризовалась более низкой гетерогенностью по чувствительности к антимикотическим препаратам.

Заключение. Архитектура сообщества грибов рода *Candida*, выделенных из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, влияет на их чувствительность к антимикотическим препаратам. При подборе эффективной антимикотической терапии для таких пациентов необходимо учитывать структуру сообщества *Candida* spp. в ротоглотке.

Ключевые слова: *Candida*, архитектура микробного сообщества, резистентность к антимикотическим препаратам, ВИЧ-инфекция

Этическое утверждение. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике при Южно-Уральском государственном медицинском университете (протокол № 4 от 25.04.2014). У всех пациентов, включённых в исследование, было получено добровольное информированное согласие на использование данных лабораторных анализов в научных целях.

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

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

Для цитирования: Несвижский Ю.В., Воропаев А.Д., Афанасьев С.С., Волчкова Е.В., Афанасьев М.С., Воропаева Е.А., Сулейманова М.Э., Буданова Е.В., Урбан Ю.Н. Взаимосвязь чувствительности *Candida albicans* к антимикотическим препаратам с архитектурой их сообщества в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1): 26–33.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-326>

The association between *Candida albicans* sensitivity to antimycotic drugs and the architecture of their microbial community in the oropharynx of HIV infected patients

Yuri V. Nesvizhsky^{1,2✉}, Alexander D. Voropaev¹, Stanislav S. Afanasiev²,
Elena V. Volchkova¹, Maxim S. Afanasiev¹, Elena A. Voropaeva²,
Mariam E. Suleymanova³, Elena V. Budanova¹, Yulia N. Urban²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

³Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russia

Abstract

Relevance. *Candida* infection remains relevant due to the wide spread of antimycotic-resistant strains of *Candida* spp. *Candida* microbial community in the biotope of the oropharynx of HIV infected patients is characterized by a certain architecture: they can be present in this biotope in the form of a monoculture or as association of co-isolates. It has been suggested that the architecture of the *Candida* microbial community may influence their resistance to antimycotic drugs.

Purpose — a comparative study of the association between the architecture of the *C. albicans* microbial community in the oropharynx of HIV infected patients with oropharyngeal candidiasis and their sensitivity to antimycotic drugs.

Materials and methods. A microbiological study of 52 isolates of *Candida* fungi (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krusei*) from the oropharynx of 31 HIV infected patients with clinical manifestations of oropharyngeal candidiasis aged 20 to 69 years with almost equal gender distribution was carried out. In the form of monocultures, 18 isolates were isolated, while 34 were identified as co-isolates, which formed 16 homogeneous communities that included strains of the same species, and 18 heterogeneous ones that consisted of fungi of various species.

Results. It was found that heterogeneous communities of *C. albicans* were markedly distinguished by sensitivity to antimycotic drugs, in particular, by low sensitivity to imidazoles. Homogeneous communities practically did not differ from monocultural ones. The general properties of the *C. non-albicans* population were largely similar to those of *C. albicans*, but were characterized by lower heterogeneity in response to antimycotic drugs.

Conclusion. The architecture of the community of *C. albicans* isolated from the oropharynx of HIV infected patients with clinical manifestations of oropharyngeal candidiasis affects their sensitivity to antimycotic drugs. When selecting effective antimycotic therapy for such patients, it is necessary to take into account the structure of the *Candida* spp. community in the oropharynx.

Keywords: *Candida*, microbial community architecture, antimycotic drug resistance, HIV infection

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the South Ural State Medical University (protocol No. 4, April 25, 2014).

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

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

For citation: Nesvizhsky Yu.V., Voropaev A.D., Afanasiev S.S., Volchkova E.V., Afanasiev M.S., Voropaeva E.A., Suleymanova M.E., Budanova E.V., Urban Y.N. The association between *Candida albicans* sensitivity to antimycotic drugs and the architecture of their microbial community in the oropharynx of HIV infected patients. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1): 26–33. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-326>

Введение

Кандидоз — распространённое патологическое состояние, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Несмотря на достижения современной медицины, проблемы, связанные с этой инфекцией, сохраняют свою актуальность [1]. Чаще всего кандидозы выступают как проявление дисбиозов различной этиологии [2, 3]. Однако в настоящее время наибольшее беспокойство представляет кандидозное

осложнение основного заболевания, особенно среди иммунокомпрометированных лиц, число которых неуклонно растёт [4–11]. Этиологический фактор кандидоза — прокариотический условно-патогенный микроорганизм рода *Candida*, представленный почти 200 видами. Среди них наиболее распространённым в популяции людей является *C. albicans* [12].

Достаточно часто *Candida* spp. высеваются от пациентов в виде монокультуры одного вида, одна-

ко при ряде состояний было отмечено параллельное присутствие в биотопе нескольких видов или штаммов данных грибов [6, 8, 13, 14]. В ходе целенаправленного микробиологического исследования слизистых ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими признаками орофарингеального кандидоза мы подтвердили данный факт [15]. Вместе с тем было обнаружено, что сообщество грибов *Candida* spp. в биотопе ротоглотки отличается упорядоченностью структуры, т.е. определённая архитектура: они могут присутствовать в данном биотопе в виде монокультуры или ассоциации коизолятов. Последние могут быть не только гетерогенными, состоящими из грибов различных видов, но и гомогенными, включающими различные штаммы одного вида.

В недавних научных публикациях делается особый акцент на структуру микробных сообществ внутренних биотопов тела человека, архитектура которых связана с патогенезом патологических процессов [16, 17]. Учитывая неуклонно расширяющееся распространение резистентности к антимикотическим препаратам среди грибов рода *Candida* [18–24], мы предположили, что устойчивость кандид к этим лекарственным средствам может быть ассоциирована с архитектурой их сообщества.

Цель работы — сравнительное исследование взаимосвязи архитектуры сообщества *C. albicans* и их чувствительности к антимикотическим препаратам в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза.

Материалы и методы

Проведено микробиологическое исследование грибов рода *Candida*, выделенных из ротоглотки 31 ВИЧ-инфицированного пациента (51,6% — мужчины, 48,4% — женщины) в возрасте 20–69 лет с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, находившихся на стационарном лечении в Клинической инфекционной больнице № 2 г. Москвы.

ВИЧ-инфекция у всех пациентов была диагностирована на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждена обнаружением специфических антител/антигенов методом иммуноферментного анализа и лизатного иммуноблоттинга к белкам вируса иммунодефицита человека («Profiblot 48 TECAN», «АвтоБлот 3000») в соответствии с клинической классификацией ВИЧ-инфекции по В.И. Покровскому (2001) в модификации 2006 г.¹ У всех обследованных лиц было получено добровольное информированное согласие на использование данных лабораторных анализов в научных целях. Протокол исследования одобрен

Комитетом по этике при ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 25.04.2014).

Выделение и идентификацию изолятов *Candida* spp. по морфологическим, тинкториальным, биохимическим и молекулярно-генетическим свойствам осуществляли в соответствии с общепринятыми методами микробиологической диагностики. Ферментативную активность оценивали с помощью коммерческих тест-систем («Remel», «Erba Lachema»). Генетические маркеры изолятов определяли в мультиплексной ПЦР с видоспецифическими праймерами («АмплиСенс®»). ПЦР проводили согласно методическим рекомендациям ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора². Для выделения ДНК использовали наборы реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Экстракцию ДНК из каждого клинического образца проводили в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-FL). Амплификацию с флюоресцентной детекцией проводили в режиме реального времени с помощью комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F. Выделенные чистые культуры *Candida* spp. хранили на скошенном агаре Сабуро в пробирках при 4–6°C.

Всего было получено 52 изолята грибов рода *Candida*, в том числе *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei* (табл. 1). В форме монокультур было выделено 18 изолятов, а также 34 коизолота, которые образовали 16 гомогенных ассоциаций, включающих штаммы только одного вида, и 18 — гетерогенных, состоящих из грибов различных видов. Для удобства анализа *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei* были объединены в группу *C. non-albicans*.

Чувствительность выделенных изолятов грибов рода *Candida* к антимикотическим препаратам определяли стандартным диско-диффузионным методом. Использовали бумажные диски («Oxoid») диаметром 6 мм, пропитанные антимикотическими препаратами, и плотную питательную среду Мюллера–Хинтона, содержащую 2% глюкозы и 0,5 мг/мл красителя метиленового синего. В качестве инокулюма использовали суточные культуры исследуемых *Candida* spp. в концентрации 0,5 ЕД по McFarland. Посевы инкубировали при 35°C 18–24 ч. Измеряли диаметр зоны задержки роста и оценивали культуры как чувствительные/резистентные к препаратам имидазолового (клотримазол, кетоконазол), триазолового (итраконазол, флуконазол) и полиенового (нистатин, амфотерицин В) рядов.

¹ Приказ Минздравсоцразвития России от 17.03.2006 № 166 «Российская клиническая классификация ВИЧ-инфекции».

² Методические рекомендации «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией». URL: <https://www.amplisens.ru/upload/iblock/db2/MR%20IPPP-FL.pdf>

Таблица 1. Характеристика изолятов грибов рода *Candida*, выделенных из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов

Table 1. Characteristics of isolates of *Candida* spp. isolated from the oropharynx of HIV-infected patients

Виды грибов Fungi species	Всего Total	Монокультуры Monocultures		Ассоциации Communities					
				всего total		гомогенные homogeneous		гетерогенные heterogeneous	
		абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
<i>C. albicans</i>	30	8	26,7	22	73,3	16	53,3	6	20,0
<i>C. non-albicans</i>	22	10	45,5	12	54,5	0	0,0	12	54,5
в том числе including <i>C. glabrata</i>	11	7	63,6	4	36,4	0	0,0	4	36,4
<i>C. tropicalis</i>	6	3	50,0	3	50,0	0	0,0	3	50,0
<i>C. krusei</i>	5	0	0,0	5	100,0	0	0,0	5	100,0
Итого Total	52	18	34,6	34	65,4	16	30,8	18	34,6

Результаты исследования подвергали стандартной статистической обработке с помощью программы «Statistica v. 6.0» («StatSoft»). Для сравнительного анализа применяли непараметрические методы Манна–Уитни и χ^2 . Критерием статистической достоверности различия получаемых данных считали общепринятую в биологии и медицине величину ошибки $p < 0,05$ [25].

Результаты

Среди изолятов *C. albicans*, выделенных в форме монокультуры, резистентность к триазолам экспрессировалась в 3,02 раза чаще ($p < 0,01$), чем к полиенам, и в 2,21 раза чаще ($p < 0,05$), чем к имидазолам (табл. 2). При этом имидазолы и полиены отличались по этой характеристике в 1,36 раза ($p > 0,05$). Монокультурные изоляты *C. albicans* были чувствительны к обоим полиеновым препаратам и клотримазолу (87,5–100,0%) и относительно устойчивы к триазолам, особенно к флуконазолу (25,0%).

Изоляты *C. albicans*, выделенные в форме гомогенных ассоциаций, чаще всего были чувствительны к препаратам полиенового ряда и реже — к триазолам, особенно флуконазолу. При этом чувствительность к полиенам в данной группе микробов встречалась в 1,45 раза чаще ($p < 0,05$), чем к имидазолам, а к триазолам — в 2,89 раза ($p < 0,001$). Количество штаммов, чувствительных к действию имидазолов, двукратно превосходило число чувствительных к триазолам ($p < 0,05$). Изоляты *C. albicans* этой формы микробного сообщества значимо не отличались по чувствительности к отдельным представителям тестируемых фармакологических групп.

В группе *C. albicans*, выделенных в форме гетерогенных ассоциаций, отмечалась низкая экспрессия чувствительности к препаратам азолового ряда. Частота обнаружения штаммов, чувствительных к триазолам, была ниже, чем к полиенам, в 3,99 раза ($p < 0,05$), а к имидазолам — в 2,67 раза

($p < 0,05$). При этом имидазолы и триазолы практически не различались по эффективности.

Сравнительный анализ показал, что изоляты *C. albicans*, выделенные в форме гомогенных ассоциаций, не отличались от монокультурных по распространению чувствительности как к отдельным антимикотическим препаратам, так и к фармацевтическим группам. *C. albicans*, представители гетерогенных ассоциаций, отличались от монокультурных изолятов и компонентов гомогенных ассоциаций резким снижением чувствительности к имидазолам в целом (в 2,75 и 2,50 раза соответственно; $p < 0,05$), и в частности к клотримазолу (в 5,24 и 3,74 раза соответственно; $p < 0,05$).

Монокультурные штаммы *C. non-albicans* были высокочувствительны к полиенам, и в первую очередь к нистатину, а резистентны — к обоим триазоловым препаратам. Группа *C. non-albicans*, выделенная в форме гетерогенных ассоциаций, оказалась высокочувствительной к полиенам, и особенно к нистатину. Чувствительные к полиенам изоляты встречались в 1,55 раза чаще ($p > 0,05$), чем к имидазолам, и 1,70 ($p < 0,05$) — к триазолам. Эффекты имидазолов не отличались по данной характеристике от триазолов. Число изолятов, чувствительных к итраконазолу, было в 3,99 раза выше ($p < 0,05$), чем к флуконазолу.

Монокультурные штаммы *C. non-albicans* статистически значимо не отличались от компонентов гетерогенных ассоциаций по экспрессии резистентности к антимикотикам. Однако среди последних в 2,22 раза чаще встречались штаммы, чувствительные к итраконазолу, и 1,67 раза — к амфотерицину В, а также в 1,80 раза реже — чувствительные к флуконазолу (во всех случаях $p > 0,05$).

Монокультурные штаммы *C. non-albicans* в основном сохраняли тенденции, характерные для *C. albicans*. Однако штаммы *C. non-albicans* оказались в 2,19 раза реже чувствительны к амфотерицину В ($p < 0,05$). Для популяции *C. non-albicans*, компонентов гетерогенных ассоциаций, по сравнению с

Таблица 2. Доля чувствительных к антимикотическим препаратам штаммов в различных группах изолятов грибов рода *Candida*, %
Table 2. The percentage of sensitive to antimycotic drugs strains in different groups of *Candida* spp. isolates, %

Виды грибов Fungi species	Форма Form	Количество изолятов Number of isolates	Имидазолы Imidazoles			Триазолы Triazoles			Полиены Polyenes		
			клотри- мазол clotrimazole	кетоназол ketoco- nazole	сумма по 2 препаратам sum for 2 drugs	итрако- назол itraconazole	флуконазол fluconazole	сумма по 2 препаратам sum for 2 drugs	нистатин nystatin	амфоте- рицин В ampho- tericin B	сумма по 2 препаратам sum for 2 drugs
<i>C. albicans</i>	Монокультуры Monocultures	8	87,5	50,0	68,8	37,5	25,0	31,1	100,0	87,5	93,8
	Гомогенные ассоциации Homogeneous communities	16	62,5	62,5	62,5	37,5	25,0	31,3	100,0	81,3	90,6
	Гетерогенные ассоциации Heterogeneous communities	6	16,7	33,3	25,0	16,7	16,7	16,7	83,3	50,0	66,7
<i>C. non-albicans</i>	Монокультуры Monocultures	10	60,0	50,0	55,0	30,0	30,0	30,0	90,0	40,0	65,0
	Гетерогенные ассоциации Heterogeneous communities	12	50,0	41,7	45,8	66,7	16,7	41,7	75,0	66,7	70,8

C. albicans аналогичной формы персистенции, было характерно почти трёхкратное повышение экспрессии чувствительности к клотримазолу ($p < 0,05$) и четырёхкратное — к итраконазолу ($p < 0,05$).

Обсуждение

Таким образом, в ходе исследования коллекции изолятов грибов рода *Candida*, выделенных из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, мы установили, что чувствительность *C. albicans* к антимикотическим препаратам зависит от архитектуры микробного сообщества. Так, среди грибов данного вида заметно выделялись компоненты гетерогенных ассоциаций. Их отличала низкая чувствительность к имидазолам, итраконазолу и амфотерицину В. В то же время в группе монокультурных изолятов доля резистентных к имидазолу штаммов была сопоставима с таковой к полиенам, а компоненты гомогенных ассоциаций практически не отличались от монокультурных.

Исследование, выполненное на группе *C. non-albicans*, взятой для сравнения, подтвердило зависимость чувствительности к антимикотическим препаратам от структуры микробного сообщества. Однако сопоставление популяций *C. albicans* и *C. non-albicans* по данной характеристике выявило их определённые различия. В частности, монокультурные изоляты *C. non-albicans* заметно чаще экспрессировали резистентность к амфотерицину В, а компоненты гетерогенных ассоциаций — чувствительность к клотримазолу и итраконазолу. Данные факты указывают на значимость архитектуры микробного сообщества грибов рода *Candida* в их межвидовой дифференциации. Между тем, общим для всех форм микробного сообщества как *C. albicans*, так и *C. non-albicans*, была высокая доля штаммов, резистентных к флуконазолу. В целом популяция *C. albicans* характеризовалась более высокой гетерогенностью в отношении чувствительности к антимикотикам, чем *C. non-albicans*. Отмеченный факт может быть следствием более высокой адаптивности вида *C. albicans* к факторам среды обитания по сравнению с последними [26].

Обнаруженные факты подтверждают отмеченную ранее значимость структуры микробных сообществ внутренних биотопов тела человека в патогенезе патологических процессов [16, 17]. Это подчёркивает важность изучения архитектуры микробных сообществ. Детальный анализ полученного материала показал, что архитектура сообщества грибов рода *Candida* — не случайное событие, а закономерность, с которой проявляются биологические свойства микроба.

Совершенно очевидно, что структура микробного сообщества может лишь частично объяснить различия микробов по чувствительности к антимикотическим препаратам.

котическим средствам. Вполне вероятно, что наблюдаемые эффекты могут быть напрямую связаны с характерной способностью *Candida* spp. образовывать биоплёнки [11, 13, 14]. Данный вопрос может быть решён в ходе направленных экспериментальных исследований. Кроме того, представляется целесообразным определить роль самого макроорганизма ВИЧ-инфицированных пациентов в формировании архитектуры рассматриваемого сообщества, а также вклад межмикробных взаимодействий в распространение лекарственной устойчивости среди грибов *Candida* spp.

Помимо чисто научного интереса, проведённое исследование имеет важное практическое значение, особенно для клиники ВИЧ-инфицированных пациентов, осложнённой орофарингеальным кандидозом. В частности, мы подтвердили, высокую эффективность полиенов, в том числе нистатина, в лечении кандидозной инфекции у этих больных. В то же время, по нашим данным, к флюконазолу наиболее часто наблюдалась резистентность, на что неоднократно указывалось ранее [15, 22, 24]. Кроме того, при подборе эффективной антимикотической терапии для таких пациентов необходимо учитывать структуру сообщества *Candida* spp. в ротоглотке, особенно в случае обнаружения гетерогенных ассоциаций.

Выводы

1. Архитектура сообщества грибов рода *Candida*, выделенных из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, влияет на их чувствительность к антимикотическим препаратам.

2. При подборе эффективной антимикотической терапии для таких пациентов необходимо учитывать структуру сообщества *Candida* spp. в ротоглотке.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Enoch D.A., Yang H., Aliyu S.H., Micallef C. The changing epidemiology of invasive fungal infections. *Methods Mol. Biol.* 2017; 1508: 17–65. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6515-1_2
2. Шаповалова М.М., Будневский А.В., Кравченко А.Я., Дробышева Е.С., Овсянников Е.С. Патогенез, современные аспекты профилактики и терапии антибиотик-ассоциированной диареи. *Архивъ внутренней медицины.* 2018; 8(6): 424–9. <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2018-8-6-424-429>
3. Ардатская М.Д., Бельмер С.В., Добрица В.П., Захаренко С.М., Лазебник Л.Б., Минушкин О.Н. и др. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2015; (5): 13–50.
4. Ambe N.F., Longdoh N.A., Tebid P., Bobga T.P., Nkfusai C.N., Ngwa S.B., et al. The prevalence, risk factors and antifungal sensitivity pattern of oral candidiasis in HIV/AIDS patients in Kumba District Hospital, South West Region, Cameroon. *Pan. Afr. Med. J.* 2020; 36: 23. <https://doi.org/10.11604/pamj.2020.36.23.18202>
5. Awoyeni A., Olaniran O., Odetoyn B., Hassan-Olajokun R., Olopade B., Afolayan D., et al. Isolation and evaluation of *Candida* species and their association with CD4+ T cells counts in HIV patients with diarrhoea. *Afr. Health Sci.* 2017; 17(2): 322–9. <https://doi.org/10.4314/ahs.v17i2.5>
6. Clark-Ordóñez I., Callejas-Negrete O.A., Aréchiga-Carvajal E.T., Mouriño-Pérez R.R. *Candida* species diversity and antifungal susceptibility patterns in oral samples of HIV/AIDS patients in Baja California, Mexico. *Med. Mycol.* 2017; 55(3): 285–94. <https://doi.org/10.1093/mmy/myw069>
7. Goulart L.S., Souza W.W.R., Vieira C.A., Lima J.S., Olinde R.A., Araújo C. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. *Einstein (Sao Paulo).* 2018; 16(3): eAO4224. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4224>
8. Hager C.L., Ghannoum M.A. The mycobiome in HIV. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2018; 13(1): 69–72. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000432>
9. Spalanzani R.N., Mattos K., Marques L.I., Barros P.F.D., Pereira P.I.P., Paniago A.M.M., et al. Clinical and laboratorial features of oral candidiasis in HIV-positive patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2018; 51(3): 352–6. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0241-2017>
10. Suleyman G., Alangaden G.J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2021; 35(4): 1027–53. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.08.002>
11. Ponde N.O., Lortal L., Ramage G., Naglik J.R., Richardson J.P. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Crit. Rev. Microbiol.* 2021; 47(1): 91–111. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1843400>
12. Dadar M., Tiwari R., Karthik K., Chakraborty S., Shahali Y., Dhama K. *Candida albicans* — biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control — an update. *Microb. Pathog.* 2018; 117: 128–38. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.028>
13. Lamichhane K., Adhikari N., Bastola A., Devkota L., Bhandari P., Dhungel B., et al. Biofilm-producing *Candida* species causing oropharyngeal candidiasis in HIV patients attending Sukraraj Tropical and Infectious Diseases Hospital in Kathmandu, Nepal. *HIV AIDS (Auckl).* 2020; 12: 211–20. <https://doi.org/10.2147/HIV.S255698>
14. Olson M.L., Jayaraman A., Kao K.C. Relative abundances of *Candida albicans* and *Candida glabrata* in *in vitro* coculture biofilms impact biofilm structure and formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 84(8): e02769-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02769-17>
15. Воропаев А.Д., Екатеринбург Д.А., Несвижский Ю.В., Зверев В.В., Афанасьев С.С., Волчкова Е.В. и др. Структура сообщества грибов рода *Candida* в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11(4): 737–45. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-TSO-1450>
16. Wlodarska M., Kostic A.D., Xavier R.J. An integrative view of microbiome-host interactions in inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe.* 2015; 17(5): 577–91. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.008>
17. Barrio C., Arias-Sánchez S., Martín-Monzón I. The gut microbiota-brain axis, psychobiotics and its influence on brain and behaviour: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology.* 2022; 137: 105640. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105640>
18. Berkow E.L., Lockhart S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infect. Drug Resist.* 2017; 10: 237–45. <https://doi.org/10.2147/IDR.S118892>
19. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(6): 312. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060312>

20. Jung I.Y., Jeong S.J., Kim Y.K., Kim H.Y., Song Y.G., Kim J.M., et al. A multicenter retrospective analysis of the antifungal susceptibility patterns of *Candida* species and the predictive factors of mortality in South Korean patients with candidemia. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99(11): e19494. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019494>
21. Osaigbovo I.I., Lofor P.V., Oladele R.O. Fluconazole resistance among oral *Candida* isolates from people living with HIV/AIDS in a Nigerian Tertiary Hospital. *J. Fungi (Basel)*. 2017; 3(4): 69. <https://doi.org/10.3390/jof3040069>
22. Pfaller M.A., Rhomberg P.R., Messer S.A., Jones R.N., Castanheira M. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2015; 82(4): 303–13. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.04.008>
23. Pristov K.E., Ghannoum M.A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25(7): 792–8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
24. Colombo A.L., Júnior J.N.A., Guinea J. Emerging multidrug-resistant *Candida* species. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2017; 30(6): 528–38. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000411>
25. Урбах В.Ю. *Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях*. М.; 1975.
26. Pereira R., Dos Santos Fontenelle R.O., de Brito E.H.S., de Moraes S.M. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *J. Appl. Microbiol.* 2021; 131(1): 11–22. <https://doi.org/10.1111/jam.14949>
27. Jung I.Y., Jeong S.J., Kim Y.K., Kim H.Y., Song Y.G., Kim J.M., et al. A multicenter retrospective analysis of the antifungal susceptibility patterns of *Candida* species and the predictive factors of mortality in South Korean patients with candidemia. *Medicine (Sao Paulo)*. 2018; 16(3): eAO4224. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4224>
8. Hager C.L., Ghannoum M.A. The mycobiome in HIV. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2018; 13(1): 69–72. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000432>
9. Spalanzani R.N., Mattos K., Marques L.I., Barros P.F.D., Pereira P.I.P., Paniago A.M.M., et al. Clinical and laboratorial features of oral candidiasis in HIV-positive patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2018; 51(3): 352–6. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0241-2017>
10. Suleyman G., Alangaden G.J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2021; 35(4): 1027–53. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.08.002>
11. Ponde N.O., Lortal L., Ramage G., Naglik J.R., Richardson J.P. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. *Crit. Rev. Microbiol.* 2021; 47(1): 91–111. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1843400>
12. Dadar M., Tiwari R., Karthik K., Chakraborty S., Shahali Y., Dhama K. *Candida albicans* — biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control — an update. *Microb. Pathog.* 2018; 117: 128–38. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.02.028>
13. Lamichhane K., Adhikari N., Bastola A., Devkota L., Bhandari P., Dhungel B., et al. Biofilm-producing *Candida* species causing oropharyngeal candidiasis in HIV patients attending Sukraraj Tropical and Infectious Diseases Hospital in Kathmandu, Nepal. *HIV AIDS (Auckl)*. 2020; 12: 211–20. <https://doi.org/10.2147/HIV.S255698>
14. Olson M.L., Jayaraman A., Kao K.C. Relative abundances of *Candida albicans* and *Candida glabrata* in *in vitro* coculture biofilms impact biofilm structure and formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 84(8): e02769–17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02769-17>
15. Voropaev A.D., Ekaterinchev D.A., Nesvizhskiy Yu.V., Zverev V.V., Afanas'ev S.S., Volchkova E.V., et al. The structure of the oropharyngeal genus *Candida* fungi community in HIV-infected patients. *Infektsiya i immunitet*. 2021; 11(4): 737–45. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-TSO-1450> (in Russian)
16. Wlodarska M., Kostic A.D., Xavier R.J. An integrative view of microbiome-host interactions in inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe*. 2015; 17(5): 577–91. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.008>
17. Barrio C., Arias-Sánchez S., Martín-Monzón I. The gut microbiota-brain axis, psychobiotics and its influence on brain and behaviour: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2022; 137: 105640. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105640>
18. Berkow E.L., Lockhart S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infect. Drug Resist.* 2017; 10: 237–45. <https://doi.org/10.2147/IDR.S118892>
19. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(6): 312. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060312>
20. Jung I.Y., Jeong S.J., Kim Y.K., Kim H.Y., Song Y.G., Kim J.M., et al. A multicenter retrospective analysis of the antifungal susceptibility patterns of *Candida* species and the predictive factors of mortality in South Korean patients with candidemia. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99(11): e19494. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019494>
21. Osaigbovo I.I., Lofor P.V., Oladele R.O. Fluconazole resistance among oral *Candida* isolates from people living with HIV/AIDS in a Nigerian Tertiary Hospital. *J. Fungi (Basel)*. 2017; 3(4): 69. <https://doi.org/10.3390/jof3040069>
22. Pfaller M.A., Rhomberg P.R., Messer S.A., Jones R.N., Castanheira M. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. *Diagn.*

REFERENCES

- Microbiol. Infect. Dis.* 2015; 82(4): 303–13.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.04.008>
23. Pristov K.E., Ghannoum M.A. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25(7): 792–8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
24. Colombo A.L., Júnior J.N.A., Guinea J. Emerging multidrug-resistant *Candida* species. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2017; 30(6): 528–38. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000411>

Информация об авторах

Несвижский Юрий Владимирович[✉] — д.м.н., профессор, профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; г.н.с. МНИИЭиМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, nesviz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0386-3883>

Воропаев Александр Дмитриевич — аспирант каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6431-811X>

Афанасьев Станислав Степанович — д.м.н., профессор, г.н.с., зам. директора по биотехнологии МНИИЭиМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Волчкова Елена Васильевна — д.м.н., профессор, зав. каф. инфекционных болезней ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4581-4510>

Афанасьев Максим Станиславович — д.м.н., профессор каф. клинической аллергологии и иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>

Воропаева Елена Александровна — д.б.н., профессор, г.н.с. МНИИЭиМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0463-0136>

Сулейманова Марьям Эмильевна — ординатор, РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9255-6481>

Буданова Елена Вячеславовна — к.м.н., доцент, доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1864-5635>

Урбан Юлия Николаевна — к.б.н., с.н.с. лаб. клинической микробиологии и биотехнологии МНИИЭиМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0189-3608>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 22.11.2022;
принята к публикации 01.02.2023;
опубликована 28.02.2023

25. Urbakh V.Yu. *Statistical Analysis in Biological and Medical Research [Statisticheskiy analiz v biologicheskikh i meditsinskikh issledovaniyakh]*. Moscow; 1975. (in Russian)
26. Pereira R., Dos Santos Fontenelle R.O., de Brito E.H.S., de Moraes S.M. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *J. Appl. Microbiol.* 2021; 131(1): 11–22. <https://doi.org/10.1111/jam.14949>

Information about the authors

Yuri V. Nesvizhsky[✉] — D. Sci. (Med.), Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; chief researcher, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, nesviz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0386-3883>

Alexander D. Voropaev — postgraduate student, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6431-811X>

Stanislav S. Afanasiev — D. Sci. (Med.), Professor, chief researcher, deputy director for biotechnology, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Elena V. Volchkova — D. Sci. (Med.), Professor, Department of infectious diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4581-4510>

Maxim S. Afanasiev — D. Sci. (Med.), Professor, Department of clinical allergology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>

Elena A. Voropaeva — D. Sci. (Biol.), Professor, chief researcher, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0463-0136>

Mariam E. Suleimanova — resident, Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9255-6481>

Elena V. Budanova — Cand. Sci. (Med.), Associated Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1864-5635>

Urban Yulia N. — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of clinical microbiology and biotechnology, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0189-3608>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 22.11.2022;
accepted for publication 01.02.2023;
published 28.02.2023



Explanatory models for tick-borne disease incidence (Astrakhan rickettsial fever and Crimean-Congo hemorrhagic fever)

Vladimir M. Dubyanskiy^{1,2}, Daria A. Prislegina^{1,2}, Alexander E. Platonov²

¹Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia;

²Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The study focuses on methods providing mathematical substantiation of discrepancies between actual incidence rates of Astrakhan rickettsial fever (ARF) and Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) and predicted rates due to the indirect impact of weather conditions during the current epidemic season.

The **purpose** of the study was to develop explanatory models for ARF and CCHF incidence using satellite monitoring (remote sensing) data and to present the results of their practical evaluation in the Stavropol Territory and Astrakhan Region.

Materials and methods. The materials included climate data provided by the Space Research Institute of the Russian Academy of Sciences as well as epidemiological data on CCHF and ARF incidence from 2005 to 2021. The explanatory models incorporated the Bayes theorem and Wald sequential analysis. All the calculations were completed using the Microsoft Excel 2010-based program developed by the authors.

Results. It has been found that the greatest indirect effect on development of the CCHF epidemiological situation is produced by the normalized difference vegetation index and relative air humidity in June-July in the Stavropol Territory and by the maximum, minimum and average air temperature in October as well as the minimum air temperature in July in the Astrakhan Region. ARF incidence rates depend on the indirect effect of the annual average and average annual maximum temperature, maximum temperature and the normalized difference vegetation index in April-July. The match between explanatory model-based results and prediction model-based results ranged within 46.2-100%.

Discussion. In addition to projecting incidence rates, which could be reached with the observed values of climatic factors in the current year, the explanatory models can be used for indirect verification of prediction models and for identification of factors causing differences in results.

Conclusion. The practical evaluation of explanatory models confirms the prospects and benefits of the study that should be continued, involving other regions highly endemic for tick-borne infections.

Keywords: *Astrakhan rickettsial fever, Crimean-Congo hemorrhagic fever, explanatory models, incidence, remote sensing*

Funding source. This study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 19-75-20088 Creation of a methodology, based on remote sensing data of the Earth, for analyzing and forecasting the impact of climatic and environmental factors on the incidence of zoonotic infections), performers — Platonov A.E., Dubyanskiy V.M., Prislegina D.A.

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

For citation: Dubyanskiy V.M., Prislegina D.A., Platonov A.E. Explanatory models for tick-borne disease incidence (Astrakhan rickettsial fever and Crimean-Congo hemorrhagic fever). *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):34–45.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-344>

«Объясняющие» модели заболеваемости клещевыми инфекциями (на примере Астраханской риккетсиозной и Крымской-Конго геморрагической лихорадки)

Дубянский В.М.^{1,2}, Прислегина Д.А.^{1,2✉}, Платонов А.Е.²

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

²Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Работа посвящена разработке методик для математического обоснования причин несоответствий фактических показателей заболеваемости Астраханской риккетсиозной (АРЛ) и Крымской-Конго геморрагической лихорадками (ККГЛ) результатам эпидемиологического прогноза, обусловленных опосредованным влиянием погодных условий текущего эпидемического сезона.

Цель исследования — разработать с использованием данных спутникового мониторинга (дистанционного зондирования Земли из космоса) «объясняющие» модели заболеваемости АРЛ и ККГЛ и представить результаты их апробации на примере Ставропольского края и Астраханской области.

Материалы и методы. Материалами послужили климатические данные, полученные из Института космических исследований РАН, а также эпидемиологические сведения по заболеваемости ККГЛ и АРЛ с 2005 по 2021 г. «Объясняющие» модели были разработаны на основе теоремы Байеса и последовательного статистического анализа Вальда. Все расчёты были выполнены в созданной авторами программе на основе «Microsoft Excel 2010».

Результаты. Установлено, что наибольшее опосредованное влияние на развитие эпидемиологической ситуации по ККГЛ в Ставропольском крае оказывают нормализованный относительный вегетационный индекс и относительная влажность воздуха в июне–июле, в Астраханской области показатели максимальной, минимальной и средней температуры воздуха в октябре, а также минимальной температуры воздуха в июле. Уровень заболеваемости АРЛ зависит от опосредованного действия среднегодовой и максимальной среднегодовой температуры воздуха, максимальной температуры воздуха и нормализованного относительного вегетационного индекса в апреле–июле. Совпадение результатов «объясняющих» моделей с аналогичными данными расчётов «прогнозных» моделей составило 46,2–100%.

Обсуждение. Предлагаемые «объясняющие» модели наряду с определением уровня заболеваемости, который мог бы быть достигнут при наблюдаемых значениях климатических факторов нынешнего года, позволяют проводить косвенную проверку «прогнозных» моделей с выявлением причин несоответствия результатов.

Заключение. Апробация «объясняющих» моделей свидетельствует о перспективности и целесообразности продолжения исследования на примере других, высокоэндемичных по клещевым инфекциям субъектов.

Ключевые слова: Астраханская риккетсиозная лихорадка, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, объясняющие модели, заболеваемость, дистанционное зондирование Земли

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-75-20088 «Создание опирающейся на данные дистанционного зондирования Земли методологии анализа и прогнозирования влияния климатических и экологических факторов на заболеваемость природно-очаговыми инфекциями»), исполнители — Платонов А.Е., Дубянский В.М., Прислегина Д.А.

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

Для цитирования: Дубянский В.М., Прислегина Д.А., Платонов А.Е. «Объясняющие» модели заболеваемости клещевыми инфекциями (на примере Астраханской риккетсиозной и Крымской-Конго геморрагической лихорадки). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):34–45.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-344>

Introduction

Forecasting of dynamics and incidence rates of tick-borne transmissible infections (TBTI) is an important component of the epidemiological surveillance over these dangerous natural-focal diseases endemic in Russia. Multiple studies address epidemiological forecasts for such TBTI diseases as tick-borne viral encephalitis, Astrakhan rickettsial fever (ARF), tick-borne borreliosis and Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) [1–10].

Prediction data for an epidemiological situation play a significant role in planning of preventive (including acaricide treatment) measures; the prediction accuracy is essential not only for justification of their scientific and economic viability, but also for application of a differentiated approach in planning. Therefore, when significant differences are observed between the predicted and reported intensity levels of the epidemic process, the factors causing them should be explored thoroughly. Such differences can be caused not only by shortcomings of the existing methods that need to be upgraded, but also by external indirect effects produced by weather conditions in the current year on the activity of arthropods transmitting TBTI, which cannot be predicted when preparing short-range (for the coming year), let alone medium and long-range forecasts. It is known that an epidemic season can start early or late, depending on the spring daytime and nighttime temperature that must be +9°C and at least +2°C, respectively, so that dormant species *Hyalomma marginatum* (the main transmitters of the CCHF pathogen) become active and start feeding on farm animals, while their parasitizing activity reaches peak levels at the monthly average temperature of +16.9°C [11–13].

The significant indirect effect produced by climatic factors on the CCHF dynamics and incidence rates during the year is confirmed by multiple studies in other countries. For example, in Southeastern Iran, scientists, using logistic regression, found a significant relationship between the number of CCHF cases and the monthly average temperature (the direct relationship with a two-month lag and the inverse relationship with a five-month lag), monthly maximum relative humidity and accumulated precipitation with a two-month lag and a five-month lag, respectively [14]. The study based on the Poisson regression analysis and the McFadden pseudo R-squared demonstrated that in Eastern Iran the number of cases highly correlated with maximum temperature (during the previous month) and relative air humidity (during the previous month and half a year) levels [15]. In addition, using logistic regression, Iranian scientists have found that when the maximum temperature during 3 previous months increases by 1°C and relative humidity during 2 previous months increases by 1%, the risk of disease case occurrence increases by 9% and 4%, respectively [16].

The one-way analysis of variance (ANOVA), which was performed in Bulgaria, demonstrates that the one-unit increase in the average air temperature and

the normalized difference vegetation index (NDVI) results in a 5.5% increase in the intensity of the CCHF epidemic process [17]. In the meantime, no extensive studies addressing the development of methods that would identify and explain, using mathematical statistics, cause-and-effect relationships between prediction results for CCHF and ARF incidence, actual data and the impact of climatic factors in the current year have been conducted so far.

The **purpose** of the study was to develop explanatory models for ARF and CCHF incidence and to present the results of their practical evaluation in the Stavropol Territory and Astrakhan Region.

Materials and methods

This comprehensive study is a continuation of the previous study involving the development of prediction models. ARF and CCHF have been selected as target diseases representing the most common TBTIs in the south of Russia. The Stavropol Territory and Astrakhan Region were selected due to high intensity of epidemic processes in terms of these infections.

The study was conducted using epidemiological and statistical research methods. The retrospective epidemiological analysis was conducted using the data from databases¹ for ARF and CCHF incidence, which were developed within the RSF project (No. 19-75-20088). The relative rates of CCHF and ARF incidence (per 100,000 population) for each administrative district in the selected regions were estimated using data from the Federal Statistics Service² for each year of the studied period. Hydro-meteorological data³ (independent variables) were represented by numeric values of 13 climatic factors, which were obtained using remote sensing satellites (for each month of the studied period and annual average):

- air temperature — average, maximum and minimum (°C);
- soil temperature at depths of 10 and 40 cm (°C);
- soil moisture content at depths of 10 and 40 cm (%);
- snow depth (m);
- area covered by snow (%);
- pressure (Pa);
- relative air humidity (%);
- precipitation (kg/m²);
- NDVI (relative units).

Thus, a total of 169 parameters were used as initial data that were further screened and downsized to the most important (informative) parameters.

The explanatory models were developed using nonparametric statistics — Bayes theorem and Wald

¹ Information from the cards of the epidemiological examination of the focus of an infectious disease (form No. 357/y).

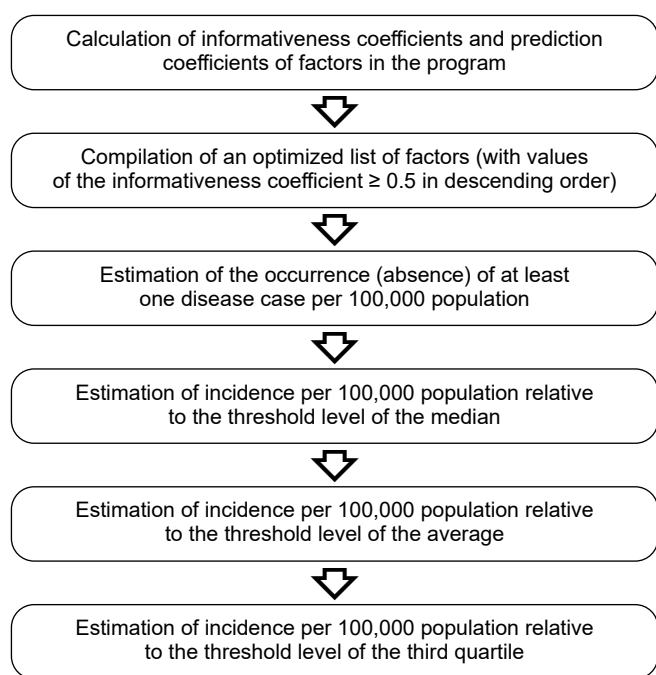
² URL: <https://rosstat.gov.ru>; <https://stavstat.gks.ru>

³ VEGA-Science TsKP "IKI-monitoring". URL: <http://sci-vega.ru/>

analysis; the informativeness coefficients for factors were calculated using the Kullback method [18–20]. A factor was seen as informative and was used for further calculations, if its informativeness value was > 0.5 .

Informativeness and prediction coefficients were calculated automatically using the Microsoft Excel 2010-based program developed by the authors during their previous studies (for prediction models) [10, 21, 22].

Mathematical calculations for explanatory models were performed similarly to the calculations for prediction models; the variables of climatic factors for the previous years were replaced with numeric values for the current epidemic season [21]. The step-by-step algorithm for calculating explanatory models is shown in **Figure**.



Algorithm for calculating explanatory models.

The threshold level of the probability of positive solution for explanatory models for CCHF incidence dynamics for the Stavropol Territory and Astrakhan Region was set at 99.0% (the error probability was 1.0%). At this stage of the study, the threshold for ARF was 90% (at the error probability of 10%), which can be explained by a low proportion of informative parameters from the list. In future, when new additional variables (such as accumulated values of climatic data) are used, the percentage of error probability can be reduced.

The calculations were made by summing up the values of prediction coefficients of the informative factors in accordance with their values for each administrative district until the numeric value of +20 or –20

was received for CCHF models and +9 or –9 for ARF models to indicate the occurrence/absence of at least 1 disease case per 100,000 population with a probability of 99% and 90%, respectively. Then, when the districts with positive results were identified, the prediction for them was made against other selected threshold levels of incidence.

The median, average and third quartile values for models for CCHF incidence dynamics for the Stavropol Territory were 0.9, 3.5 and 4.7; 0.5, 1 and 2 for the Astrakhan Region; and for the model for ARF incidence dynamics in the Astrakhan Region — 25, 39.5 and 62.4, respectively.

The calculations for explanatory models for CCHF incidence dynamics for the Stavropol Territory were based on retrospective data for 2005–2019, for CCHF and ARF in the Astrakhan Region - for 2013–2019.

The pilot testing of the performance of the models was conducted using retrospective data for 2018–2020; the evaluation was performed using data for 2021.

Results and discussion

The explanatory models were developed, addressing the following tasks:

1) assessment of the indirect relationship between the weather conditions during the current epidemic season and the intensity of the CCHF and ARF epidemic process, using informativeness coefficients;

2) estimation of the incidence rate that could be reached at the observed values of climatic factors during the current year (exclusive of the impact of the hydro-meteorological data of the previous year) and its subsequent comparison with the actual rates;

3) indirect verification of prediction models for CCHF and ARF incidence to identify the factors causing erroneous results or, on the opposite, to confirm the accuracy of the performance of the above models.

During the assessment stage it was found that the climatic factors that were critical for development of explanatory models for different regions differed significantly. Based on the calculated coefficients of informativeness, the most informative factors for the Stavropol Territory were NDVI and relative air humidity in June–July, demonstrating complete consistency with the published data [23–27]. For the CCHF model in the Astrakhan Region, the highest values of informativeness coefficients were received for the maximum, minimum and average air temperature in October as well as for the minimum air temperature in July, thus also showing no discrepancy with the published data on the impact of weather conditions on tick activity [25–28]. Meanwhile, such differences are expected and can be explained by significant differences in landscape, climatic, hydrological and other conditions in the Stavropol Territory and Astrakhan Region, which have a significant effect on the epizootological and epidemiological CCHF situation [29–31].

The most informative parameters for the explanatory model for ARF incidence dynamics in the Astrakhan Region were the annual average and average annual maximum temperature, maximum air temperature and NDVI in April–July, which is also consistent with the published data [25, 28].

The accuracy of explanatory models was verified by comparison of the calculated data with the reported incidence rates for each administrative district.

As with prediction models, the model-based erroneous predictions were divided into 4 categories [21]:

- false-positive — the result of the explanatory model for the first stage is positive; however, no disease cases have been reported;
- false-negative — the result for the first stage is negative; however, disease cases (at least 1) have been reported;

- overestimated — the actual incidence rate is lower than the estimated rate at the set threshold level;
- underestimated — the actual incidence rate is higher than the estimated rate at the set threshold level.

The results of testing and evaluation of explanatory models are presented in **Tables 1–3**.

Thus, the accuracy of the obtained results compared to the actual data for explanatory models for CCHF incidence dynamics in the Stavropol Territory ranged from 30.8% (8 districts) in 2020 to 61.5% (16 districts) in 2021; in the Astrakhan Region — from 16.7% (2 districts) in 2020 to 100% (12 districts) in 2021. The verification of ARF models showed that the accuracy of results ranged from 25% in 2020 (3 districts) to 75% (9 districts) in 2018. However, if like with

Table 1. Testing results for the explanatory model for CCHF incidence dynamics for 2018–2020 (retrospectively) and evaluation results in 2021 (the Stavropol Territory)

Result	Years							
	2018		2019		2020		2021	
	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%
Correct	10	38.5	13	50.0	8	30.8	16	61.5
False positive	8	30.8	7	26.9	13	50.0	5	19.2
False negative	–	–	2	7.7	1	3.8	2	7.7
Overestimated	8	30.8	4	15.4	4	15.4	3	11.5

Table 2. Testing results for the explanatory model for CCHF incidence dynamics for 2018–2020 (retrospectively) and evaluation results in 2021 (the Astrakhan Region)

Result	Years							
	2018		2019		2020		2021	
	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%
Correct	5	41.7	7	58.3	2	16.7	12	100.0
False positive	5	41.7	4	33.3	10	83.3	–	–
False negative	–	–	–	–	–	–	–	–
Overestimated	2	16.7	1	8.3	–	–	–	–

Table 3. Testing results for the explanatory model for ARF incidence dynamics for 2018–2020 (retrospectively) and evaluation results in 2021 (the Astrakhan Region)

Result	Years							
	2018		2019		2020		2021	
	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%	number of districts	%
Correct	9	75.0	8	66.7	3	25.0	6	50.0
False positive	–	–	–	–	4	33.3	–	–
False negative	1	8.3	1	8.3	–	–	–	–
Overestimated	2	16.7	3	25.0	5	41.7	6	50.0

the earlier developed prediction models (and considering the below-given explanations about a significant effect produced by factors of the previous year on the formation of tick populations during the current epidemic season), the focus of error assessment is shifted to false-negative results that are seen as truly erroneous, the average accuracy of CCHF models in the studied period for the Stavropol Territory and Astrakhan Region will be 95.2% and 100%, respectively, and 95.9% for the ARF model.

The obtained results demonstrate satisfactory performance of the developed models and confirm that the right method has been selected for achievement of the study objectives.

Special attention should be given to the possibility to compare the results of explanatory models with those obtained by using the prediction models and the actual data; this comparison provides answers to several important questions. Firstly, climatic factors, which most likely were the reason for the prediction failure, can be identified in each case of the wrongly predicted and the correct explanatory result. For example, when the weather conditions were favorable for formation of high numbers of tick populations during the previous year, the climatic factors, which were unfavorable for the activity of transmitters during the spring-summer period of the current year (the low temperature in May,

Table 4. Comparison of results obtained by using prediction and explanatory models for CCHF incidence dynamics for the Stavropol Territory (for 2021)

Administrative district	Prediction result	Interpretation of prediction	Interpretation of explanation	Explanation result	Actual incidence per 100,000 population)
Alexandrovsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Andropovsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Apanasenkovsky	> 4.7	Correct	> 4.7	Correct	10.1
Arzgirsky	> 4.7	Correct	> 4.7	Correct	8.3
Blagodarnensky	> 4.7	Correct	> 4.7	Correct	5.2
Budennovsky	> 4.7	False positive	> 4.7	False positive	0
Georgievsky	> 0.9	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Grachevsky	≤ 0.000009	False negative	≤ 0.000009	False negative	2.7
Izobilnensky	> 4.7	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Ipatovsky	> 4.7	Correct	> 4.7	Correct	5.4
Kirovsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Kochubeevsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Krasnogvardeisky	> 4.7	Correct	> 4.7	Correct	5.4
Kursky	> 4.7	False positive	> 4.7	False positive	0
Levokumsky	> 4.7	False positive	> 4.7	False positive	0
Mineralovodsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Neftekumsky	> 4.7	Overestimated	> 4.7	Overestimated	1.6
Novoaleksandrovsky	> 4.7	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Novoselytsky	> 4.7	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Petrovsky	> 4.7	Overestimated	> 4.7	Overestimated	1.4
Predgornyy	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Soviet	> 4.7	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Stepnovsky	> 4.7	False positive	> 4.7	False positive	0
Trunovsky	> 4.7	Overestimated	> 4.7	Overestimated	3.4
Turkmensky	> 4.7	False positive	> 4.7	False positive	0
Shpakovsky	≤ 0.000009	False negative	≤ 0.000009	False negative	1.3

continuous rainy days in June-July), contributed indirectly to lower incidence rates among the population, which matched the reported rates. On the contrary, the air temperature that was higher compared to the mean temperature in April–May could bring along the earlier beginning of the epidemic season; its length can be also increased due to warm, calm weather in September. Considering such unpredictable weather changes, our prediction models incorporate a calculated error probability of 1% and 10%, respectively. Secondly, the above comparison can be used for indirect verification of the performance of prediction models. For example, false-positive or overestimated results obtained concurrently in both models can be seen as a proof of accuracy of the prediction model and can imply that not all cases have been detected due to under-diagnosis of mild cases or due to other external factors that are not directly related to the TBTI epidemic process, as we are going to discuss further in the article. Thirdly, the concurrent false-negative results can suggest the existence of an imported case (when a patient got infected (was bitten by a tick) during their stay in another administrative district or outside the region) or can suggest the existence of factors, which cannot be taken into consideration (for example, a person can get infected through the close contact with tick-infested cattle driven from another district highly endemic for CCHF).

The retrospective data for 2018-2020 show that the match between the results of explanatory models for CCHF incidence dynamics and the similar estimated data for prediction models for the Stavropol Territory ranged from 46.2% in 2018 (12 districts) to 100% in 2019-2020 (26 districts), and for the Astrakhan region,

it ranged from zero due to the absence of results in 2020 to 100% in 2019 (12 districts). For the ARF models, the proportion of matching results ranged from 66.7% in 2020 (8 districts) to 83.3% (10 districts) in 2019.

The comparison results for 2021 are presented in **Tables 4–6**.

The above tables also demonstrate that the offered models provide clear explanation of differences between the actual and predicted rates due to the effects of factors during the current year. For example, for 5 administrative districts in the Stavropol Territory (Georgiyevsky, Izobilnensky, Novoaalexandrovsky, Novoselitsky and Sovetsky) having false-positive predicted results, the explanatory model provided the results matching the actual data (absence of CCHF cases) mostly due to the adverse weather conditions during the spring-summer period. For the models used in the Astrakhan Region, the similar situation for CCHF was observed in 2 cases — in Astrakhan and the Kharabalinsky District; for ARF — for 2 districts having false-positive predicted results (Akhtubinsky and Chernoyarsky Districts) and 4 districts with overestimated predicted results (Volodarsky, Yenotayevsky, Kamyzyaksky and Privolzhsky Districts). The evaluation results show that explanatory models can and should be used to achieve the set objectives.

When analyzing the performance of the models, it should be remembered that 2 years of testing and evaluation (2020 and partially 2021) coincided with the COVID-19 pandemic period. The decrease in the incidence of almost all TBTI forms, which was observed during that period due to the implementation of restrictive measures, the reduced number of specific laborato-

Table 5. Comparison of results obtained by using prediction and explanatory models for CCHF incidence dynamics for the Astrakhan Region (for 2021)

Administrative district	Prediction result	Interpretation of prediction	Interpretation of explanation	Explanation result	Actual incidence per 100,000 population)
Astrakhan	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Akhtubinsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0
Volodarsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Enotaevsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Ikryaninsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Kamyzyaksky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Krasnoyarsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Limansky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Narimanovsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Privolzhskiy	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Kharabalinsky	> 2	False positive	≤ 0.000009	Correct	0
Chernoyarsky	≤ 0.000009	Correct	≤ 0.000009	Correct	0

Table 6. Comparison of results obtained by using prediction and explanatory models for ARF incidence dynamics for the Astrakhan Region (for 2021)

Administrative district	Prediction result	Interpretation of prediction	Interpretation of explanation	Explanation result	Actual incidence per 100,000 population)
Astrakhan	≤ 62.4	Overestimated	≤ 39.5	Overestimated	3.24
Akhtubinsky	> 62.4	False positive	≤ 0.000009	Correct	0.00
Volodarsky	≤ 39.5	Overestimated	≤ 25	Correct	2.18
Enotaevsky	> 62.4	Overestimated	≤ 25	Correct	4.06
Ikryaninsky	≤ 62.4	Overestimated	≤ 39.5	Overestimated	15.24
Kamyzyaksky	≤ 39.5	Overestimated	≤ 25	Correct	6.54
Krasnoyarsky	> 62.4	Overestimated	> 62.4	Overestimated	32.82
Limansky	> 62.4	Overestimated	≤ 39.5	Overestimated	6.93
Narimanovsky	> 62.4	Overestimated	≤ 39.5	Overestimated	17.04
Privolzhskiy	≤ 62.4	Overestimated	≤ 39.5	Correct	25.95
Kharabalinsky	> 62.4	Overestimated	> 62.4	Overestimated	46.09
Chernoyarsky	≤ 25	False positive	≤ 0.000009	Correct	0.00

ry tests for diagnosis verification, the probability of under-diagnosis of mild CCHF and ARF cases because of high overload and repurposing of treatment and preventive care facilities, may have affected the accuracy of results obtained by using explanatory models for 2020. The external impact on the performance of the models is also demonstrated by a high percentage of concurrently obtained false-positive (overestimated) results both for prediction and explanation for the same districts – for CCHF in the Stavropol Territory (17 districts) and for ARF in the Astrakhan Region (7 districts). Therefore, the accurate assessment of the effectiveness and accuracy of the models can be made only after stabilization of the COVID-19 epidemiological situation.

Conclusion

The authors have made an attempt to solve the problem addressing the interrelated and divergent effects produced by the factors of the previous and current years on the intensity of TBTI epidemic processes in the south of Russia and to receive a mathematically grounded answer to the common question "Why did the epidemiological forecast fail to come true?". During the

study conducted using data for the Stavropol Territory and Astrakhan Region, we developed explanatory models for incidence dynamics of ARF and CCHF, which are the most common TBTIs in the Southern and North Caucasian Federal Districts. The results obtained after testing and evaluation of the models are quite satisfactory and prove that they can be used independently for assessment of the impact of weather conditions during the current epidemic season on the epidemiological situation for TBTI as well as for verification of the earlier developed prediction models and identification of the factors causing differences between the predicted and the reported incidence rates.

The performance of the models needs further verification, especially during the stabilization of the epidemiological situation for COVID-19, and further improvement to increase accuracy of the obtained results (the search for additional informative climatic and other factors such as accumulated temperature, precipitation, etc.). The study will be continued, focusing on development of similar models for other regions in the south of Russia, which are highly endemic for TBTI (Rostov and Volgograd Regions).

REFERENCES

- Ugleva S.V., Akimkin V.G., Ponezheva Zh.B., Akhmerova R.R., Spirenkova A.E., Chernikova Yu.Yu., et al. Epidemiological community and differences of transmissible infections in Astrakhan region. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2021; 20(6): 63–71. <https://doi.org/10.31631/2073304620212066371> (in Russian)
- Il'in V.P., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Pakskina N.D. Morbidity rate forecasting for 2014 as regards tick-borne viral encephalitis in the territory of the Russian Federation based on multi-factor regression models. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2014; (2): 48–52. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-2-48-52> (in Russian)
- Berikov V.B., Lbov G.S., Polyakova G.L., Bakhvalova V.N., Panov V.V., Shchuchinova L.D., et al. Analysis of factors influencing the incidence of tick-borne encephalitis, using logical-and-probabilistic and correlation-regression models. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2011; (6): 25–34. (in Russian)
- Shirokostup S.V., Shevchenko V.V., Luk'yanenko N.V. Results of evaluation of risk factors influence on disease incidence of tick-borne viral encephalitis and ixodic tick-borne borreliosis in combined foci of these infections in altai territory. *Meditsinskiy al'manakh*. 2014; (4): 67–70. (in Russian)
- Haemig P.D., Sjöstedt de Luna S., Grafström A., Lithner S., Lundkvist Å., Waldenström J., et al. Forecasting risk of tick-borne encephalitis (TBE): using data from wildlife and climate to predict next year's number of human victims. *Scand. J. Infect. Dis.* 2011; (5): 366–72. <https://doi.org/10.3109/00365548.2011.552072>
- Mills J.N., Gage K.L., Khan A.S. Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: a review and proposed research plan. *Environ. Health Perspect.* 2010; (11): 1507–14. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901389>
- Estrada-Peña A., Zatansever Z., Gargili A., Aktas M., Uzun R., Ergonul O., et al. Modeling the spatial distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreaks in Turkey. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2007; 7(4): 667–78. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0134>
- Dubyanskiy V.M., Prisleгина D.A., Kulichenko A.N. Risk-oriented model for predicting epidemiological situation with Crimean-Congo hemorrhagic fever (on the example of Stavropol region). *Analiz riska zdorov'yu*. 2018; (1): 13–21. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.1.02> (in Russian)
- Prisleгина D.A., Dubyanskiy V.M., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N., Vasilenko N.F., Manin E.A., et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Stavropol region: contemporary clinical and epidemiological aspects and new approach to forecasting of morbidity. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie*. 2018; 7(3): 49–56. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2018-13007> (in Russian)
- Prisleгина D.A., Maletskaya O.V., Dubyanskiy V.M., Platonov A.E. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the north caucasian federal district: overview of the epidemiological situation and improvement of morbidity forecasting method. *Infektsiya i immunitet*. 2022; 12(2): 357–65. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-CHF-1827> (in Russian)
- Tokhov Yu.M., Degtyarev D.Yu., Dubyanskiy V.M. *Ixodid Ticks (Morphology, Medical Significance, Population Regulation) [Iksodovye kleshchi (morfologiya, meditsinskoe znachenie, regulyatsiya chislennosti)]*. Stavropol'; 2015. (in Russian)
- Trukhachev V.I., Tokhov Yu.M., Lutsuk S.N., Dylev A.A., Tolokonnikov V.P., D'yachenko Yu.V. Distribution and ecological characteristics of *Hyalomma ixodid* ticks in the ecosystems of the Stavropol region. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*. 2016; 11(2): 59–69. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2016-2-59-69> (in Russian)
- Tokhov Yu.M., Chumakova I.V., Lutsuk S.N., D'yachenko Yu.V., Kotenev E.S., Zaytsev A.A. Tick as the reservoir of contagious diseases in the Stavropol territory. *Vestnik veterinarii*. 2013; (2): 19–21. (in Russian)
- Ansari H., Shahbaz B., Izadi S., Zeinali M., Tabatabaee S.M., Mahmoodi M., et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relationship with climate factors in southeast Iran: a 13-year experience. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2014; 8(6):749–57. <https://doi.org/10.3855/jidc.4020>
- Mostafavi E., Chinikar S., Bokaei S., Haghdoost A. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in eastern Iran. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17(7): 524–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.010>
- Mostafavi E., Haghdoost A., Irani A.D., Bokaei S., Chinikar S. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *J. Med. Microbiol. Infect. Dis.* 2014; 1(2): 1–7.
- Vescio F.M., Busani L., Mughini-Gras L., Khoury C., Avellis L., Taseva E., et al. Environmental correlates of Crimean-Congo haemorrhagic fever incidence in Bulgaria. *BMC Public Health*. 2012; 12: 1116. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-1116>
- Gubler E.V. *Computational Methods for Analysis and Identification of Pathological Processes [Vychislitel'nye metody analiza i raspoznavaniya patologicheskikh protsessov]*. Leningrad: Meditsina; 1978. (in Russian)
- Gubler E.V., Genkin A.A. *Application of Statistical Non-Parametric Criteria in Medico-Biological Investigations [Primenenie neparametricheskikh kriteriev statistiki v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad: Meditsina; 1973. (in Russian)
- Dubyanskiy M.A., Kenzhebaev A., Stepanov V.M., Asenov G.A., Dubyanskaya L.D. *Prognostication of Plague Epizootic Activity in Sub-Aral and Kyzylkum Areas [Prognozirovanie epizooticheskoy aktivnosti chumy v Priaral'e i Kyzylkumakh]*. Nukus: Karakalpakstan; 1992. (in Russian)
- Dubyanskiy V.M., Prisleгина D.A., Platonov A.E. Predicting incidence of Crimean-Congo hemorrhagic fever using satellite monitoring (remote sensing) data in the Stavropol territory. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022; 99(3): 322–35. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-213> (in Russian)
- Prisleгина D.A., Dubyanskiy V.M., Kulichenko A.N. Particular dangerous arbovirus fevers in the south of Russia: improvement of monitoring with modern information technology. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2019; (4): 50–8. <https://doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10047> (in Russian)
- Kotti B.K., Zaikina I.N., Zhil'tsova M.V. Distribution of the ixodid tick *Hyalomma marginatum* Koch (acari: ixodidae) in the Stavropol region. *Nauka. Innovatsii. Tekhnologii*. 2017; (3): 161–74. (in Russian)
- Tokhov Yu.M. *Ixodid Ticks of the Stavropol Territory and Their Epidemiological Significance [Iksodovye kleshchi Stavropol'skogo kraia i ikh epidemiologicheskoe znachenie]*. Stavropol'; 2008. (in Russian)
- Balashov Yu.S. *Ixodid Ticks are Parasites and Vectors of Infectious Diseases [Iksodovye kleshchi — parazity i perenoschiki infektsiy]*. St. Petersburg: Nauka; 1998. (in Russian)
- Koshkina N.A., Goryachaya E.V. The description of tick morphology *Hyalomma marginatum marginatum* and its control. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal*. 2013; (2): 10–4. (in Russian)
- Nili S., Khanjani N., Jahani Y., Bakhtiari B. The effect of climate variables on the incidence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Zahedan, Iran. *BMC Public Health*. 2020; 20(1): 1893. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09989-4>
- Zimina Yu.V., Kulikova L.N., Sal'ko V.N., Kovtunov A.I. Ixodid ticks of the Astrakhan region, their role in the formation of natural foci and the transmission of arboviruses to humans. In: *Questions of Rickettsiology and Virology [Voprosy rickettsiologii i virusologii]*. Astrakhan'–Moscow; 1996: 58–62. (in Russian)

29. Shuvaev N.S., Barmin A.N., Kolchin E.A., Barmina E.A., Kolchina L.V. Conflicts in nature management of the Astrakhan region as a source of threat and risk of violation of region's sustainable development. *Geograficheskiy vestnik*. 2012; (4): 21–8. (in Russian)
30. Federal Service of Geodesy and Cartography of Russia. *Atlas of the Astrakhan Region [Atlas Astrakhanskoy oblasti]*. Moscow; 1997. (in Russian)
31. Shal'nev V.A. *Landscapes of the Stavropol Territory [Landscape Stavropol'skogo kraya]*. Stavropol'; 1995. (in Russian)

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Углева С.В., Акимкин В.Г., Понежева Ж.Б., Ахмерова Р.Р., Спиренкова А.Е., Черникова Ю.Ю. и др. Эпидемиологическая общность и различия актуальных для Астраханской области трансмиссивных инфекций. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20(6): 63–71. <https://doi.org/10.31631/2073304620212066371>
2. Ильин В.П., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Пакскина Н.Д. Прогнозирование заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации в 2014 г., основанное на многофакторных регрессионных моделях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (2): 48–52. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2014-2-48-52>
3. Бериков В.Б., Лбов Г.С., Полякова Г.Л., Бахвалова В.Н., Панов В.В., Щучинова Л.Д. и др. Анализ факторов, влияющих на заболеваемость клещевым энцефалитом, с использованием логико-вероятностных и корреляционно-регрессионных моделей. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; (6): 25–34.
4. Широкоступ С.В., Шевченко В.В., Лукьяненко Н.В. Результаты оценки влияния факторов риска на заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом и иксодовым клещевым боррелиозом в сочетанных очагах данных инфекций в Алтайском крае. *Медицинский альманах*. 2014; (4): 67–70.
5. Naemig P.D., Sjøstedt de Luna S., Grafström A., Lithner S., Lundkvist Å., Waldenström J., et al. Forecasting risk of tick-borne encephalitis (TBE): using data from wildlife and climate to predict next year's number of human victims. *Scand. J. Infect. Dis.* 2011; (5): 366–72. <https://doi.org/10.3109/00365548.2011.552072>
6. Mills J.N., Gage K.L., Khan A.S. Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: a review and proposed research plan. *Environ. Health Perspect.* 2010; (11): 1507–14. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901389>
7. Estrada-Peña A., Zatansever Z., Gargili A., Aktas M., Uzun R., Ergonul O., et al. Modeling the spatial distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreaks in Turkey. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2007; 7(4): 667–78. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0134>
8. Дубянский В.М., Прислегина Д.А., Куличенко А.Н. Риск-ориентированная модель прогнозирования эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (на примере Ставропольского края). *Анализ риска здоровью*. 2018; (1): 13–21. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.1.02>
9. Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Куличенко А.Н., Василенко Н.Ф., Манин Е.А. и др. Крымская геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае: современные клинико-эпидемиологические аспекты и новый подход к прогнозированию заболеваемости. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(3): 49–56. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2018-13007>
10. Прислегина Д.А., Малецкая О.В., Дубянский В.М., Платонов А.Е. Крымская геморрагическая лихорадка в Северо-Кавказском федеральном округе: обзор эпидемиологической ситуации и совершенствование методики прогнозирования заболеваемости. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(2): 357–65. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-CHF-1827>
11. Тохов Ю.М., Дегтярев Д.Ю., Дубянский В.М. Иксодовые клещи (морфология, медицинское значение, регуляция численности). Ставрополь; 2015.
12. Трухачев В.И., Тохов Ю.М., Луцук С.Н., Дылев А.А., Толоконников В.П., Дьяченко Ю.В. Распространение и экологическая характеристика иксодовых клещей рода *Hyalomma* в экосистемах Ставропольского края. *Юг России: экология, развитие*. 2016; 11(2): 59–69. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2016-2-59-69>
13. Тохов Ю.М., Чумакова И.В., Луцук С.Н., Дьяченко Ю.В., Котенев Е.С., Зайцев А.А. Иксодовые клещи — резервуар возбудителей инфекционных и инвазионных болезней на территории Ставропольского края. *Вестник ветеринарии*. 2013; (2): 19–21.
14. Ansari H., Shahbaz B., Izadi S., Zeinali M., Tabatabaee S.M., Mahmoodi M., et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relationship with climate factors in southeast Iran: a 13-year experience. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2014; 8(6):749–57. <https://doi.org/10.3855/jidc.4020>
15. Mostafavi E., Chinikar S., Bokaei S., Haghdoost A. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in eastern Iran. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17(7): 524–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.010>
16. Mostafavi E., Haghdoost A., Irani A.D., Bokaei S., Chinikar S. Temporal modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *J. Med. Microbiol. Infect. Dis.* 2014; 1(2): 1–7.
17. Vescio F.M., Busani L., Mughini-Gras L., Khoury C., Avellis L., Taseva E., et al. Environmental correlates of Crimean-Congo haemorrhagic fever incidence in Bulgaria. *BMC Public Health*. 2012; 12: 1116. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-1116>
18. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Ленинград: Медицина; 1978.
19. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград: Медицина; 1973.
20. Дубянский М.А., Кенжебаев А., Степанов В.М., Асенов Г.А., Дубянская Л.Д. Прогнозирование эпизоотической активности чумы в Приаралье и Кызылкумах. Нукус: Каракалпакстан; 1992.
21. Дубянский В.М., Прислегина Д.А., Платонов А.Е. Прогнозирование заболеваемости Крымской геморрагической лихорадкой на основе данных спутникового мониторинга (дистанционного зондирования Земли из космоса) на примере Ставропольского края. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022; 99(3): 322–35. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-213>
22. Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Куличенко А.Н. Особо опасные арбовирусные лихорадки на юге России: совершенствование мониторинга с применением современных информационных технологий. *Медицина труда и экология человека*. 2019; (4): 50–8. <https://doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10047>
23. Котти Б.К., Заикина И.Н., Жильцова М.В. Распространение иксодового клеща *Hyalomma marginatum Koch (Acari: Ixodidae)* в Ставропольском крае. *Наука. Инновации. Технологии*. 2017; (3): 161–74.
24. Тохов Ю.М. Иксодовые клещи Ставропольского края и их эпидемиологическое значение. Ставрополь; 2008.
25. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука; 1998.
26. Кошкина Н.А., Горячая Е.В. Морфобиологическая характеристика клеща *Hyalomma marginatum marginatum* и меры борьбы с ним. *Российский паразитологический журнал*. 2013; (2): 10–4.

27. Nili S., Khanjani N., Jahani Y., Bakhtiari B. The effect of climate variables on the incidence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) in Zahedan, Iran. *BMC Public Health*. 2020; 20(1): 1893. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09989-4>
28. Зимина Ю.В., Куликова Л.Н., Салько В.Н., Ковтунов А.И. Иксодовые клещи Астраханской области, их роль в формировании природных очагов и передачи арбовирусов человеку. В кн.: *Вопросы риккетсиологии и вирусологии*. Астрахань–М.; 1996: 58–62.
29. Шуваев Н.С., Бармин А.Н., Колчин Е.А., Бармина Е.А., Колчина Л.В. Конфликты в природопользовании Астраханской области как источник угрозы и риска нарушения устойчивого развития региона. *Географический вестник*. 2012; (4): 21–8.
30. Федеральная служба геодезии и картографии России. Атлас Астраханской области. М.; 1997.
31. Шальнев В.А. Ландшафты Ставропольского края. Ставрополь; 1995.

Information about the authors

Vladimir M. Dubyanskiy — D. Sci. (Biol.), Head, Department of epizootological monitoring and prognostication, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia; member of the temporary research team for the implementation of the grant of the Russian Science Foundation Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3817-2513>

Daria A. Prislegina[✉] — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of epidemiology, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russia; member of the temporary research team for the implementation of the grant of the Russian Science Foundation Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, daria775@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9522-129X>

Alexander E. Platonov — D. Sci. (Biol.), Prof., chief researcher, Laboratory of zoonoses, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7450-0081>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the research, drafting the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 29.10.2022;
accepted for publication 15.12.2022;
published 28.02.2023

Информация об авторах

Дубянский Владимир Маркович — д.б.н., зав. отделом эпизоотологического мониторинга и прогнозирования Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия; член временного научного коллектива по выполнению гранта РФ ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3817-2513>

Прислегина Дарья Александровна[✉] — к.м.н., с.н.с. лаб. эпидемиологии Ставропольского противочумного института, Ставрополь, Россия; член временного научного коллектива по выполнению гранта РФ ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, daria775@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9522-129X>

Платонов Александр Евгеньевич — д.б.н., проф., г.н.с. лаб. эпидемиологии природно-очаговых инфекций ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7450-0081>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 29.10.2022;
принята к публикации 15.12.2022;
опубликована 28.02.2023

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-263>

Изучение коллективного иммунитета к гепатиту А среди населения Республики Татарстан

Патяшина М.А.^{1,2}, Юзлибаева Л.Р.^{1,2}✉

¹Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Татарстан, Казань, Россия;

²Казанская государственная медицинская академия — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Казань, Россия

Аннотация

Введение. Выявление наиболее восприимчивых к заражению вирусным гепатитом А (ГА) групп населения является ключевой составляющей для регулирования противозидемических мероприятий при активизации эпидемического процесса.

Цель исследования — оценка коллективного иммунитета к ГА среди различных возрастных групп населения Республики Татарстан.

Материалы и методы. Проведены анализ заболеваемости вирусным ГА с 2006 по 2021 г. и изучение коллективного иммунитета к ГА среди 6553 не привитых против вируса ГА лиц в различных возрастных группах. Серопозитивными считали пациентов с защитной концентрацией антител к вирусу ГА 20 мМЕ/мл и более.

Результаты. Проведенный анализ показал низкую интенсивность эпидемического процесса в совокупности ($3,6 \pm 0,3\text{‰}$), при этом заболеваемость вирусным ГА среди детей и взрослых имела существенные различия с превышением первой группы в 2,3 раза ($6,9 \pm 0,9$ и $3,0 \pm 0,3\text{‰}$ и соответственно). Эпидемический процесс определяют лица в возрасте 15–17 лет ($8,2 \pm 2,5\text{‰}$), 3–6 лет ($7,0 \pm 1,9\text{‰}$), 7–14 лет ($6,2 \pm 1,3\text{‰}$), уровень заболеваемости среди данных возрастных групп за все наблюдаемые годы оставался наиболее высоким. В целом удельный вес серопозитивных детей составил $32,1 \pm 1,0\%$, среди взрослых выявлены anti-HAV-IgG с защитной концентрацией $68,2 \pm 0,7\%$. Наиболее высокая частота положительных anti-HAV-IgG-образцов отмечена среди лиц 50–59 лет и составила $89,4 \pm 1,1\%$, 40–49 лет — $73,5 \pm 1,2\%$, 30–39 лет — $65,5 \pm 1,3\%$, 20–29 лет — $48,2 \pm 1,6\%$. В совокупности $56,9 \pm 0,6\%$ обследованных лиц имели защитные антитела к вирусу ГА. Показатели относительной частоты выявления anti-HAV-IgG статистически достоверно отличались во всех возрастных группах ($p < 0,05$).

Ключевые слова: вирусный гепатит А, коллективный иммунитет, эпидемический процесс, защитные антитела

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Казанской государственной медицинской академии — филиалом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (протокол № 4 от 21.04.2022).

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

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

Для цитирования: Патяшина М.А., Юзлибаева Л.Р. Изучение коллективного иммунитета к вирусу гепатита А среди населения Республики Татарстан. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2023;100(1):46–51. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-263>

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-263>

Assessment of herd immunity to hepatitis A virus among the population of the Republic of Tatarstan

Marina A. Patyashina^{1,2}, Lilia R. Yuzlibaeva^{1,2}✉

¹Department of the Federal service for supervision of consumer protection and human welfare in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia;

²Kazan State Medical Academy— Branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia

Abstract

Introduction. Identification of the groups of the population most susceptible to infection with hepatitis A virus (HAV) is a key component for the regulation of anti-epidemic measures during the activation of the epidemic process.

The **aim** — assessment of the herd immunity to hepatitis A (HA) among different age groups of the population of the Republic of Tatarstan.

Materials and methods. The analysis of the HA incidence of from 2006 to 2021 and the study of herd immunity to HA among 6,553 persons from different age groups that were not vaccinated against HA were carried out. Participants with protective concentrations of antibodies to HAV of 20 mMU/ml or more were considered as seropositive.

Results. The analysis showed a low intensity of the epidemic process in general ($3.6 \pm 0.3\text{‰}$), while the HA incidence among children and adults was significantly different, with incidence rates 2.3 times higher in the first group (6.9 ± 0.9 and $3.0 \pm 0.3\text{‰}$, respectively). The epidemic process is determined by persons aged 15–17 years ($8.2 \pm 2.5\text{‰}$), 3–6 years ($7.0 \pm 1.9\text{‰}$), 7–14 years ($6.2 \pm 1.3\text{‰}$), the incidence among these age groups in all observed years remained the highest. In general, the proportion of seropositive children was $32.1 \pm 1.0\%$. Among adults, anti-HAV IgG antibodies in a protective concentration was detected in $68.2 \pm 0.7\%$. The highest frequency of anti-HAV IgG positive samples was observed among persons aged 50–59 years — $89.4 \pm 1.1\%$, in age group 40–49 years — $73.5 \pm 1.2\%$, in age group 30–39 years — $65.5 \pm 1.3\%$, and in age group 20–29 years — $48.2 \pm 1.6\%$. In total, $56.9 \pm 0.6\%$ of the examined individuals had protective antibodies to HAV. The detection rates of anti-HAV IgG antibodies were significantly different in all age groups ($p < 0.05$).

Keywords: viral hepatitis A, collective immunity, epidemic process, protective antibodies

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Kazan State Medical Academy— Branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (protocol No. 4, April 21, 2022).

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

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

For citation: Patyashina M.A., Yuzlibaeva L.R. Assessment of herd immunity to hepatitis A virus among the population of the Republic of Tatarstan. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):46–51. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-263>

Введение

Несмотря на заметное снижение заболеваемости в последние годы, вирусный гепатит А (ВГА) является актуальной инфекционной патологией. Согласно оценкам ВОЗ, ежегодно во всём мире регистрируется 1,4–1,5 млн новых случаев инфицирования гепатитом А (ГА) [1–3], истинное число которых в 3–10 раз выше [1, 2]. В отличие от парентеральных гепатитов, значимость ВГА зачастую недооценивается, что в основном связано с благоприятным прогнозом течения заболевания. Однако в 3–20% случаев наблюдается рецидив заболевания. У детей ВГА имеет доброкачественное течение, но достаточно часто приводит к развитию осложнений: фиброза печени, холецистита, холангита и дискинезии желчных путей, гастроуденита [4, 5].

В развивающихся странах с плохими санитарными условиями и гигиенической практикой большинство (90%) детей приобретают ВГА до достижения 10-летнего возраста. В большинстве промышленно развитых стран встречается незначительное количество клинически выраженных случаев ВГА. Поэтому взрослое население восприимчиво к заболеванию: например, у 93% населения Швеции в возрасте до 40 лет отсутствует иммунитет к вирусу ГА.

Россию в целом относят к регионам со средней эндемичностью, при этом на отдельных территориях уровни заболеваемости существенно различаются и в разных районах страны колеблются от 9 до 210 на 100 тыс. населения [6]. В России наблюдается тенденция к снижению заболеваемости вирусными гепатитами, что приближает нашу страну по данному показателю к странам Западной Европы. Заболеваемость ГА в России с 2009 по 2020 г. снизилась практически в 3,8 раза (с 7,3 до 1,9 на 100 тыс. населения). Минимальный показатель был зарегистрирован в 2020 г. и составил 1,9 на 100 тыс. населения. Однако эта ситуация привела к снижению коллективного иммунитета, что может вызвать рост заболеваемости ГА. Относительное эпидемиологическое благополучие по данной инфекции является мнимым и определяется как наличием больших циклов, характерных для данной инфекции, так и рядом социальных факторов [6]. Рост актуальности проблемы ГА в последние десятилетия определяет появление большой когорты взрослого населения, не имеющей в крови антител к вирусу [7, 8]. Республика Татарстан относится к территориям с умеренной интенсивностью заболевания, однако, с учетом высокой экономической и социальной значимости ВГА,

изучение коллективного иммунитета к ГА среди различных возрастных групп населения республики является крайне актуальным для определения интенсивности эпидемического процесса и регулирования противоэпидемических мероприятий при осложнении эпидемиологической ситуации.

Цель исследования — оценка коллективного иммунитета к ГА среди различных возрастных групп населения Республики Татарстан.

Материалы и методы

В качестве материалов использованы формы статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в Республике Татарстан за 2006–2021 гг., разработанные авторами отчётные формы по состоянию заболеваемости ВГА за период с 2006 по 2021 г. Для изучения коллективного иммунитета к ГА в 2009–2021 гг. проводилось исследование методом иммуноферментного анализа с использованием реагентов «Вектогеп А-IgG» («Вектор-Бест») сывороток крови у 6553 не привитых против ВГА лиц в различных возрастных группах (1–2 года — 243 человека, 3–6 лет — 694, 7–14 лет — 1116, 20–29 лет — 991, 30–39 лет — 1375, 40–49 лет — 1368, 50–59 лет — 766), результаты исследований представлены в протоколах лабораторных исследований (испытаний).

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Казанской государственной медицинской академии — филиалом Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (протокол № 4 от 21.04.2022).

Выборка непривитых против ГА лиц для изучения коллективного иммунитета осуществлялась в рамках ежегодно выносимых постановлений Глав-

ного государственного санитарного врача по Республике Татарстан по организации эпидемиологического мониторинга в Республике Татарстан. Количество подлежащих отбору сывороток в разрезе возрастных категорий, населённых пунктов, исключение из выборки привитых против ГА лиц определялись в постановлениях, вынесенных в адрес медицинских организаций Республики Татарстан.

Каждым участником исследования подписана «Форма информированного согласия». Исследования проведены среди 3771 (57,5%) сельского жителя и 2782 (42,5%) городских жителей. Доля женского населения составила 57% ($n = 3725$), мужского населения — 543% ($n = 2828$). В исследованиях в 2009 г. приняли участие 288 человек, в 2010 г. — 487, в 2011 г. — 433, в 2012 г. — 629, в 2013 г. — 688, в 2014 г. — 625, в 2015 г. — 639, в 2016 г. — 499, в 2017 г. — 500, в 2018 г. — 502, в 2019 г. — 564, в 2020 г. — 494, в 2021 г. — 205. Серопозитивными считали пациентов с защитной концентрацией антител к вирусу ГА 20 мМЕ/мл и более.

Статистическую обработку результатов исследований проводили путём определения стандартных ошибок показателей, доверительных интервалов [9]. Достоверность различий между показателями оценивали с помощью критерия Стьюдента. Статистическую зависимость между явлениями определяли путём вычисления коэффициента корреляции Пирсона [2].

Результаты

В начале 1980-х гг. в Республике Татарстан заболеваемость ВГА достигала 200 случаев на 100 тыс. населения, в 1998 г. уровень заболеваемости составил 30,6‰, в 2006–2021 гг. — 1,1–5,4‰ с тенденцией к снижению (средний многолетний уровень — $3,6 \pm 0,3$ ‰; **рис. 1**).

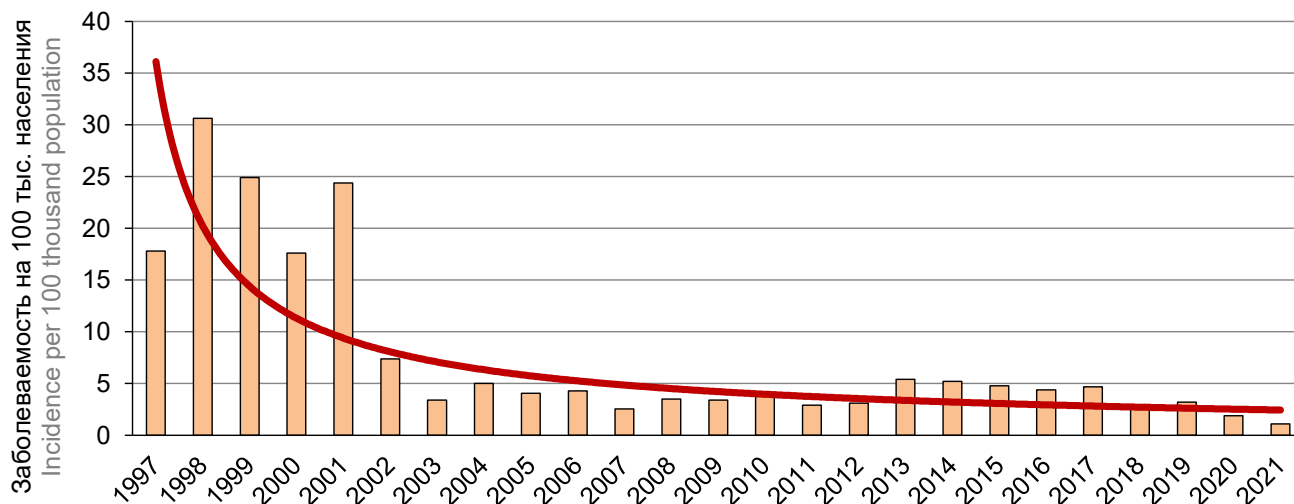


Рис. 1. Динамика заболеваемости ВГА в Республике Татарстан (1997–2021 гг.) на 100 тыс. населения и линия тренда.

Fig. 1. The dynamics of the incidence of viral hepatitis A in the Republic of Tatarstan (1997–2021) per 100 thousand population and trend line.

Эпидемический процесс (2006–2021 гг.) определяют лица в возрасте 15–17 лет ($8,2 \pm 2,5\%$), 3–6 лет ($7,0 \pm 1,9\%$), 7–14 лет ($6,2 \pm 1,3\%$), уровень заболеваемости среди данных возрастных групп за все наблюдаемые годы оставался наиболее высоким. Низкая интенсивность заболеваемости — в возрастных группах старше 60 лет ($0,1 \pm 0,1\%$), среди детей до 1 года ($0,6 \pm 1,1\%$), 50–59 лет ($1,0 \pm 0,9\%$), 40–49 лет ($2,8 \pm 0,7\%$), 1–2 года ($3,5 \pm 1,9\%$). Таким образом, проведённый анализ показал различную интенсивность эпидемического процесса среди детского и взрослого населения с превышением заболеваемости среди детей в 2,3 раза ($6,9 \pm 0,9$ и $3,0 \pm 0,3\%$).

Удельный вес серопозитивных лиц в возрасте 1–2 года составил $43,6 \pm 3,2\%$, 3–6 лет — $34,7 \pm 1,8\%$, 7–14 лет — $28,0 \pm 1,3\%$, общий удельный вес серопозитивных детей — $32,1 \pm 1,1\%$. Наиболее высокая частота положительных anti-*HA*V-IgG-образцов отмечена среди лиц 50–59 лет и составила $89,4 \pm 1,1\%$, 40–49 лет — $73,5 \pm 1,2\%$, 30–39 лет — $65,5 \pm 1,3\%$, 20–29 лет — $48,2 \pm 1,6\%$. Среди взрослых выявлены anti-*HA*V-IgG с защитной концентрацией $68,2 \pm 0,7\%$. В совокупности $56,9 \pm 0,67\%$ обследованных лиц имели защитные антитела к вирусу ГА. Показатели относительной частоты выявления анти-*ВГА*-IgG статистически достоверно отличались во всех возрастных группах ($p < 0,05$) (таблица).

Путем корреляционно-регрессивного анализа установлена обратная сильная корреляционная связь между уровнем заболеваемости *ВГА* в отдельных возрастных группах и удельным весом лиц с защитной концентрацией антител к вирусу ГА ($r = -0,8419$; $p < 0,05$). При низкой заболеваемости ГА среди лиц возрастной категории 50–59 лет ($1,0\%$) максимальная частота выявления защитных антител соответствовала данной группе и составила $89,4\%$ (2009–2021 гг.). Аналогичное соотношение

отмечено и в возрастной категории 40–49 лет, где при низкой заболеваемости *ВГА* ($2,9\%$) наблюдалась высокая доля иммунных лиц из числа обследованных ($73,5\%$). При высоком уровне заболеваемости *ВГА* среди детей 7–14 лет ($6,2\%$) была низкая частота выявления защитных антител ($28,0\%$). Высокий уровень заболеваемости *ВГА* ($7,0\%$) в возрастной группе 3–6 лет также соотносится с низкой долей иммунных лиц ($34,7\%$; рис. 2).

Таким образом, в Республике Татарстан коллективный иммунитет в основном сформирован среди взрослого населения старше 30 лет, что подтверждается результатами проведённых исследований. Несмотря на достаточно низкую интенсивность эпидемического процесса в республике в целом, высокая частота выявления защитных антител в старших возрастных группах в период наблюдения свидетельствует об их инфицированности на протяжении жизни, с другой стороны — об их защищённости от заболевания. Выявленный относительно низкий удельный вес серопозитивных детей показывает наличие когорты незащищённых слоев населения, которые могут быть вовлечены в эпидемический процесс.

Проведённый анализ эпидемиологической ситуации по *ВГА* на территории Республики Татарстан обосновал необходимость реализации профилактических мероприятий. Наиболее результативным, менее затратным и оперативным, в отличие от других профилактических мер, является вакцинопрофилактика. На 01.01.2022 в республике привито против *ВГА* 53 568 человек, в том числе контингент, относящийся к декретированным группам, — 40 770 ($76,1\%$) человек.

Обсуждение

Путём корреляционно-регрессивного анализа установлена обратная сильная корреляционная

Частота выявления защитной концентрации антител к вирусу ГА в различных возрастных группах в Республике Татарстан

Frequency of detection of protective concentration of antibodies to the HA virus in different age groups in the Republic of Tatarstan

Возраст, лет Age, years	<i>n</i>	Абсолютное число серопозитивных лиц Absolute number of seropositive individuals	Доля серопозитивных лиц, % Share of seropositive, %	<i>m</i>	Нижняя доверительная граница ($\Pi - 1,96m$) Lower confidence limit ($P - 1,96m$)	Верхняя доверительная граница ($\Pi + 1,96m$) Upper confidence limit ($P + 1,96m$)	<i>t</i> -критерий Стьюдента Student's <i>t</i> -test
1–2	243	106	43,6	3,181294	37,3861	49,856735	
3–6	694	241	34,7	1,807251	31,184	38,268436	2,43
7–14	1116	313	28,0	1,344726	25,4109	30,682257	2,57
20–29	991	478	48,2	1,587311	45,123	51,345237	9,7
30–39	1375	900	65,5	1,282372	62,9411	67,967994	8,44
40–49	1368	1005	73,5	1,193733	71,1252	75,804629	4,57
50–59	766	685	89,4	1,111078	87,2479	91,603301	9,79

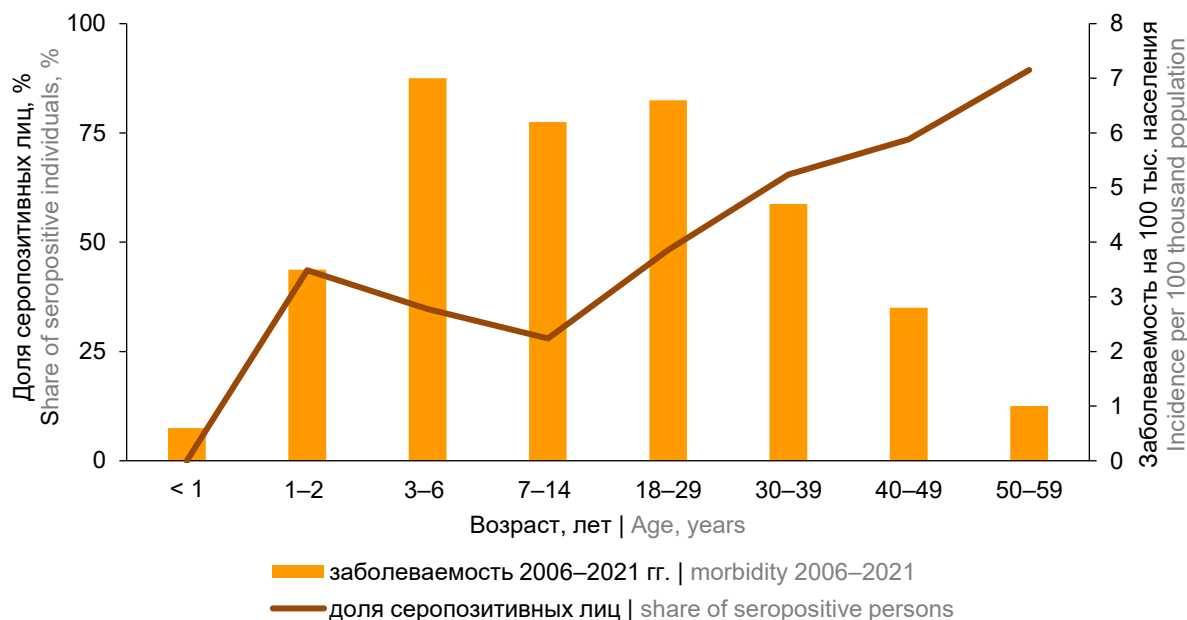


Рис. 2. Сравнительная возрастная структура заболеваемости ГА и доли иммунных к вирусу ГА лиц в Республике Татарстан (на 100 тыс. возрастной группы).

Fig. 2. Comparative age structure of hepatitis A morbidity and the proportion of persons immune to the HA virus in the Republic of Tatarstan (per 100 thousand age group).

связь между уровнем заболеваемости ВГА в отдельных возрастных группах и удельным весом лиц с защитной концентрацией антител к вирусу ГА ($r = -0,8419$; $p < 0,05$). При низкой заболеваемости ВГА среди лиц возрастной категории 50–59 лет ($1,0 \pm 0,4\text{‰}$) максимальная частота выявления защитных антител соответствовала данной группе и составила 89,4%. При высоком уровне заболеваемости ВГА среди детей 7–14 лет ($6,2 \pm 1,3\text{‰}$) частота выявления защитных антител из числа обследованных низкая ($28,0 \pm 1,3\%$). Высокий уровень заболеваемости ГА ($7,0 \pm 1,9\text{‰}$) в возрастной группе 3–6 лет также соотносится с низкой долей иммунных лиц ($34,7 \pm 1,8\%$).

Коллективный иммунитет в основном сформирован среди взрослого населения старше 30 лет, выявленный относительно низкий удельный вес серопозитивных детей показывает наличие когорты незащищённых слоев населения, которые могут быть вовлечены в эпидемический процесс. В конце 1990-х гг. проведённые на ряде территорий Российской Федерации исследования показали, что доля иммунного к вирусу ГА населения европейской части страны составляла 39,5–46,8%, в том числе среди подростков 15–19 лет этот показатель составил 25,9–47,3%, среди взрослых старше 20 лет — 60–70%. Изучение коллективного иммунитета к вирусу ГА в Санкт-Петербурге в 2009 г. в возрастных группах 20–29, 30–39, 40 лет и старше продемонстрировало резкое снижение частоты выявления антител к вирусу ГА в возрастных группах 20–29, 30–39 лет, показатели составили лишь 28,3 и 24,2% [10].

В Республике Тыва среди детей в возрасте 1–4 года частота встречаемости защитных антител составила 28%, 5–9 лет — 42%, 10–14 лет — 68%, среди лиц в возрасте 20–29 лет — 98%, 30–39 лет — 96%, 40–49 лет — 98%, 50–59 лет — 97%; в Свердловской области — 64, 74, 12,5, 39, 50, 63,5 и 81,3% соответственно [11]. Результаты исследований не имеют принципиальных отличий с данными по Свердловской области, общий удельный вес серопозитивного населения в возрасте 50–59 лет в обоих регионах имеет наибольшее значение (Республика Татарстан — 89,4%, Свердловская область — 81,3%).

Заключение

Улучшение санитарно-гигиенического состояния и санитарной грамотности населения в целом привело к снижению заболеваемости ВГА, однако, с учётом усиления миграционных процессов, остаётся риск осложнения эпидемиологической ситуации. Наиболее уязвимыми к заражению ВГА являются возрастные группы 7–14 и 3–6 лет, которые остаются наиболее незащищёнными группами по результатам изучения популяционного иммунитета и при осложнении эпидемиологической ситуации могут быть вовлечены в эпидемический процесс. Высокая частота выявления защитных антител среди взрослого населения свидетельствует об активном вовлечении в эпидемический процесс данных возрастных групп не на современном этапе, а ранее. Коллективный иммунитет в основном сформирован среди взрослого населения старше 30 лет. Наиболее надёжной профи-

лактической мерой с учётом рисков завоза инфекции извне является широкий охват вакцинацией незащи-

щённых слоев населения, в том числе детей и взрослых из числа декретированных групп.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лыткина И.Н., Зайцев Б.Е., Солодовников Ю.П., Попова О.Е., Михайлов М.И. Результаты вакцинации против гепатита А в эпидемических очагах в коллективах детей и подростков. *Мир вирусных гепатитов*. 2002; (11): 21–3.
2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера; 2002: 142–95.
3. Wasley A., Fiore A., Bell B.P. Hepatitis A in the era of vaccination. *Epidemiol. Rev.* 2006; 28: 101–11. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxj012>
4. Мукомолов С.Л., Сталевская А.В., Железнова Н.В. Сeroэпидемиология вирусного гепатита в Санкт-Петербурге в 2009 году. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010; 87(5): 15–20.
5. Nothdurft H.D. Hepatitis A vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2008; 7(5): 535–45. <https://doi.org/10.1586/14760584.7.5.535>
6. Isaeva O.V. *14th ISVHLD*. Shanghai; 2012.
7. Эсауленко Е.В., Лялина Л.В., Трифонова Г.Ф., Семенов А.В., Бушманова А.Д., Скворода В.В. и др. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. СПб.; 2018.
8. Шахгил'дьян И.В., Михайлов М.И., Попова О.Е., Лыткина И.Н., Романенко В.В., Юровских А.И. и др. Современные эпидемиологические закономерности и эффективность вакцинации против гепатита А в Российской Федерации. *Инфекционные болезни*. 2006; 4(1): 20–7.
9. Чистенко Г.Н. Эпидемиологическая диагностика. Минск; 2007: 132–48.
10. Пакторис Е.А. Основные вопросы эпидемиологии гепатита. В кн.: Материалы XV научной сессии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского «Вопросы медицинской вирусологии» Выпуск IX. Этиология, эпидемиология, клиника, профилактика. М.; 1964: 95–113.
11. Львов Д.К., ред. Медицинская вирусология: Руководство. М.: МИА; 2008.

Информация об авторах

Патяшина Марина Александровна — д.м.н., руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Татарстан, Казань, Россия; зав. кафедрой эпидемиологии и дезинфектологии Казанской государственной медицинской академии — филиала Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6302-3993>

Юзлибаева Лилия Рустемовна — к.м.н., начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Татарстан, Казань, Россия; доцент кафедры эпидемиологии и дезинфектологии Казанской государственной медицинской академии — филиала Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Казань, Россия, yuzlibaeva.lr@tatar.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8082-0302>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.10.2022;
принята к публикации 14.01.2023;
опубликована 28.02.2023

REFERENCES

1. Lytkiia I.N., Zaytsev B.E., Solodovnikov Yu.P., Popova O.E., Mikhaylov M.I. Results of vaccination against Hepatitis A in epidemic foci in groups of children and adolescents. *Mir virusnykh gepatitov*. 2002; (11): 21–3. (in Russian)
2. Rebrova O.Yu. Statistical Analysis of Medical Data. Application of the STATISTICA Application Software Package. Moscow: Media Sfera; 2002: 142–95. (in Russian)
3. Wasley A., Fiore A., Bell B.P. Hepatitis A in the era of vaccination. *Epidemiol. Rev.* 2006; 28: 101–11. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxj012>
4. Mukomolov S.L., Stalevskaya A.V., Zheleznova N.V. Seroepidemiology of viral hepatitis in St. Petersburg in 2009. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2010; 87(5): 15–20. (in Russian)
5. Nothdurft H.D. Hepatitis A vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2008; 7(5): 535–45. <https://doi.org/10.1586/14760584.7.5.535>
6. Isaeva O.V. *14th ISVHLD*. Shanghai; 2012.
7. Esaulenko E.V., Lyalina L.V., Trifonova G.F., Semenov A.V., Bushmanova A.D., Skvoroda V.V., et al. Viral Hepatitis in the Russian Federation. Analytical Review [Virusnye gepatity v Rossiyskoy Federatsii. Analiticheskiy obzor]. St. Petersburg; 2018. (in Russian)
8. Shakhgil'dyan I.V., Mikhaylov M.I., Popova O.E., Lytkina I.N., Romanenko V.V., Yurovskikh A.I. et al. Modern epidemiological patterns and effectiveness of vaccination against hepatitis A in the Russian Federation. *Infektsionnye bolezni*. 2006; 4(1): 20–7. (in Russian)
9. Chistenko G.N. *Epidemiological Diagnostics [Epidemiologicheskaya diagnostika]*. Minsk; 2007: 132–48. (in Russian)
10. Paktoris E.A. The main issues of hepatitis epidemiology. In: Materials of the XV Scientific Session of the D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Questions of Medical Virology». Issue IX. Etiology, Epidemiology, Clinic, Prevention. Moscow; 1964: 95–113. (in Russian)
11. L'vov D.K., ed. Medical Virology. Manual [Meditsinskaya virusologiya: Rukovodstvo]. Moscow: MIA; 2008. (in Russian)

Information about the authors

Marina A. Patyashina — D. Sci. (Med.), Director, Department of the Federal service for supervision of consumer protection and human welfare in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia; Head, Department of epidemiology and disinfection, Kazan State Medical Academy — Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6302-3993>

Lilia R. Yuzlibaeva — Cand. Sci. (Med.), Head, Epidemiological Surveillance Department of the Federal service for supervision of consumer protection and human welfare in the Republic of Tatarstan; Associate Professor, Department of epidemiology and disinfection, Kazan State Medical Academy — Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia, yuzlibaeva.lr@tatar.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8082-0302>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.10.2022;
accepted for publication 14.01.2023;
published 28.02.2023

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-327>

Клинико-эпидемиологическая характеристика злокачественных новообразований, ассоциированных с вирусом папилломы человека, в регионах Северо-Запада России

Лялина Л.В.¹, Холопов Д.В.¹, Язенок А.В.², Хижа В.В.², Топузов Э.Э.³, Касаткин Е.В.⁴, Горяев Е.А.⁵, Задоркина Т.Г.⁶, Молчанова Ж.Р.⁷

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

²Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург, Россия;

³Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия;

⁴Кожно-венерологический диспансер № 8, Санкт-Петербург, Россия;

⁵Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия;

⁶Центр специализированных видов медицинской помощи Калининградской области, Калининград, Россия;

⁷Управление Роспотребнадзора по Калининградской области, Калининград, Россия

Аннотация

Введение. Ведущая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в этиопатогенезе злокачественных новообразований (ЗНО) некоторых локализаций является общепризнанной. Применяемые в мире и России вакцины для профилактики папилломавирусной инфекции создают основу для элиминации заболеваний, ассоциированных с ВПЧ, в будущем.

Цель исследования — определение региональных, гендерных и возрастных особенностей ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, для обоснования развития единой системы эпидемиологического надзора и вакцинопрофилактики.

Материалы и методы. Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости ЗНО, ассоциированными с ВПЧ, и смертности от этих неоплазий в регионах Северо-Западного федерального округа России проведён за 2011–2020 гг. по данным формы № 7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» и Популяционных раковых регистров Санкт-Петербурга (13 117 случаев), Ленинградской (3204 случая) и Калининградской (2898 случаев) областей.

Результаты. В структуре ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, в Санкт-Петербурге, Ленинградской и Калининградской областях у мужчин более 90% составили опухоли полости рта, ротоглотки и гортани, среди женщин более 60% занимает рак шейки матки. Установлены региональные и возрастные особенности заболеваемости раком шейки матки и смертности от этой патологии. Выявлены статистически значимые различия заболеваемости раком головы и шеи, ануса и анального канала различных возрастных групп мужчин и женщин.

Заключение. В результате проведённого исследования установлены региональные, гендерные и возрастные особенности заболеваемости ЗНО, ассоциированными с ВПЧ, на Северо-Западе России. Эти данные целесообразно использовать для развития единой системы эпидемиологического надзора и вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции и связанных с ней неоплазий.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, злокачественные новообразования, региональные, гендерные и возрастные особенности, Северо-Запад России, заболеваемость, смертность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора (протокол № 56 от 26.11.2019).

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам раковых регистров Санкт-Петербурга и Калининградской области за помощь в проведении исследования.

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

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

Для цитирования: Лялина Л.В., Холопов Д.В., Язенок А.В., Хижа В.В., Топузов Э.Э., Касаткин Е.В., Горяев Е.А., Задоркина Т.Г., Молчанова Ж.Р. Клинико-эпидемиологическая характеристика злокачественных новообразований, ассоциированных с вирусом папилломы человека, в регионах Северо-Запада России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):52–64.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-327>

Clinical and epidemiological characteristics of cancers associated with human papillomavirus in the regions of North-West Russia

Liudmila V. Lyalina^{1✉}, Dmitry V. Kholopov¹, Arkady V. Yazenok², Valentin V. Khizha², Evgeniy V. Kasatkin³, Eldar E. Topuzov⁴, Evgeniy A. Goryaev⁵, Tatyana G. Zadorkina⁶, Zhanna R. Molchanova⁷

¹St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

²Medical information and analytical center, St. Petersburg, Russia;

³Skin and venereological dispensary No. 8, St. Petersburg, Russia;

⁴Saint-Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russia;

⁵Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases of the Leningrad Region, St. Petersburg, Russia;

⁶Center for Specialized Types of Medical Care of the Kaliningrad region, Kaliningrad, Russia;

⁷Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia

Abstract

Introduction. The leading role of the human papillomavirus in the etiopathogenesis of malignant neoplasms of some localizations is generally recognized. Vaccines that are used in the world and in Russia for the prevention of papillomavirus infection create the basis for the elimination of diseases associated with the human papillomavirus in the future.

The aim of the study is to determine the regional, gender and age-specific features of cancers associated with the human papillomavirus to substantiate the development of a unified system of epidemiological surveillance and vaccination.

Materials and methods. The retrospective epidemiological analysis of the incidence of cancers associated with the human papillomavirus and mortality due to these neoplasms in the regions of the North-Western Federal District of Russia in 2011–2020 was carried out based on data from Statistic Form 7 "Information on malignant neoplasms" and the Population cancer Registers of St. Petersburg (13,117 cases), Leningrad region (3204 cases) and the Kaliningrad region (2898 cases).

Results. In the structure of cancers associated with the human papillomavirus in St. Petersburg, Leningrad and Kaliningrad regions, more than 90% of men had tumors of the oral cavity, oropharynx and larynx, more than 60% of women had cervical cancer. Regional and age-specific features of the incidence of cervical cancer and mortality from this pathology have been established. Statistically significant differences in the incidence of cancer of the head and neck, anus and anal canal in different age groups of the male and female population were revealed.

Conclusion. As a result of the study, regional, gender and age-specific features of the incidence of human papillomavirus-associated malignant neoplasms in the North-West of Russia were established. These data should be used to develop a system of epidemiological surveillance of papillomavirus infection and vaccination program.

Keywords: *human papillomavirus, cancer, regional, gender and age features in North-West of Russia, morbidity, mortality*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The protocol of the study was approved by the Local Ethics Committee of the St. Petersburg Pasteur Institute (Protocol No. 56, November 26, 2019).

Acknowledgement. The authors are grateful to the staff of the cancer registries of St. Petersburg and the Kaliningrad region for their help in conducting the study.

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

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

For citation: Lyalina L.V., Kholopov D.V., Yazenok A.V., Khizha V.V., Kasatkin E.V., Topuzov E.E., Goryaev E.A., Zadorkina T.G., Molchanova Zh.R. Clinical and epidemiological characteristics of cancers associated with human papillomavirus in the regions of North-West Russia. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):52–64.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-327>

Введение

Вопросы канцерогенеза, связанного с возбудителями инфекционных и паразитарных заболеваний, давно привлекают внимание отечественных и зарубежных исследователей. В этиологии злока-

чественных новообразований (ЗНО) в мире доля инфекций составляет до 20% [1]. К ЗНО, ассоциированным с вирусом папилломы человека (ВПЧ), Международное агентство по изучению рака относит рак полости рта, миндалин, ротоглотки, горта-

ни, ануса и анального канала, шейки матки, вульвы, влагалища и полового члена [2]. Важное значение в развитии ЗНО отводится генотипам вируса — согласно опубликованным данным, в мире 4,5% случаев рака были связаны с ВПЧ 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58-го генотипов [3].

Анализ опубликованных работ свидетельствует о наличии гендерных и возрастных особенностей ВПЧ-ассоциированных ЗНО: в 2020 г. в структуре всех ЗНО доля рака губы и полости рта составила 2,8% у мужчин и 1,3% у женщин, миндалин и ротоглотки — 0,8 и 0,2%, гортани — 1,7 и 0,3% соответственно, шейки матки — 6,9%, вульвы — 0,5%, влагалища — 0,2%, полового члена — 0,4% [4], анального канала (оба пола) — 0,3% [5]. В США в 2007–2016 гг. показатели заболеваемости раком полости рта и глотки увеличивались среди лиц в возрасте 50–79 лет [6]. В России в 2020 г. наибольший уровень заболеваемости раком полости рта и ротоглотки у мужчин зарегистрирован в возрастной группе 65–69 лет, у женщин — в группах 50–59 и 70–74 лет. Максимальная заболеваемость раком гортани выявлена в возрасте 65–69 лет у мужчин и 70–74 года у женщин — 37,37 и 1,84 на 100 тыс. мужского и женского населения соответственно [7]. Отмечается тенденция к росту заболеваемости раком анального канала с увеличением показателей почти на 2% ежегодно [8]. По данным некоторых авторов, рак вульвы значительно чаще обнаруживается в молодой группе пациентов [9]. Самые высокие уровни заболеваемости раком влагалища наблюдались у пожилых [7, 10].

В мире и России среди ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, у женщин наиболее актуальной проблемой является рак шейки матки (РШМ), многие исследователи отмечают негативные тенденции заболеваемости женского населения репродуктивного и трудоспособного возраста. В мире средний возраст впервые выявленных больных с диагнозом РШМ составил 54 года, при этом самый ранний максимум заболеваемости установлен в Великобритании (30–34 года) [11]. В России в 2020 г. средний возраст больных РШМ оказался равным 53 года, наибольшая заболеваемость отмечена в возрастной группе 40–44 лет (36,61 на 100 тыс. населения) [7].

Заболеваемость раком полового члена характеризуется более низкими уровнями. По данным популяционного ракового регистра Норвегии, ЗНО этой локализации в 60% случаев обнаруживались у мужчин старше 65 лет [12], в России максимальная заболеваемость зарегистрирована в возрасте 75–79 лет (5,91 на 100 тыс. мужского населения) [7].

Результаты изучения смертности от ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, также свидетельствуют о высокой социальной и медицинской значимости проблемы. В 2020 г. смертность в мире от рака ротоглотки и миндалин в возрастной группе 15–44 лет

составила 0,12 и 0,03 на 100 тыс. мужского и женского населения соответственно [13]. В России в 2020 г. средний возраст умерших составил у мужчин 67 лет, у женщин — 69 лет [7]. Средний возраст больных раком анального канала — 60 лет [14], и эта локализация отличается высоким уровнем смертности [15]. В 2020 г. в России в структуре онкологической смертности женщин РШМ занял 1-е место (21,3%) в возрастной группе 30–39 лет [6]. Самые высокие показатели смертности от рака влагалища в Великобритании наблюдались в старших возрастных группах [16].

В 2007–2016 гг. в России выявлено 5 761 170 случаев доброкачественных новообразований и ЗНО, ассоциированных с ВПЧ [17], что составляет более 5% в структуре общей онкологической заболеваемости [18]. Клинико-эпидемиологические особенности и актуальность проблемы ВПЧ-ассоциированных ЗНО в России явились основой для научного обоснования необходимости совершенствования вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции в нашей стране [19–22]. В 2020 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала глобальную стратегию элиминации РШМ как проблемы общественного здравоохранения [23]. Это стало возможным благодаря доказанной эффективности вакцинации против ВПЧ в предотвращении тяжёлой дисплазии шейки матки [24–27] и первичной профилактики РШМ [28]. В России принята Стратегия развития иммунопрофилактики инфекционных болезней до 2035 г., которая предусматривает совершенствование вакцинации против папилломавирусной инфекции, что создаёт предпосылки для постепенного снижения заболеваемости и элиминации ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, в будущем.

Цель исследования: определение региональных, гендерных и возрастных особенностей ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, для обоснования развития единой системы эпидемиологического надзора и вакцинопрофилактики.

Материалы и методы

В исследование включены материалы о зарегистрированных ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, в соответствии с рекомендациями Международного агентства по изучению рака и Международной классификацией болезней Десятого пересмотра (МКБ-10): рак полости рта (код МКБ-10 C01–C06), миндалин и ротоглотки (C09–10), гортани (C32), анального канала (C21), вульвы (C51), влагалища (C52), шейки матки (C53), полового члена (C60). Проведён анализ заболеваемости мужского и женского населения Северо-Западного федерального округа (СЗФО) в целом и отдельных регионов в 2011–2020 гг. Интенсивные и экстенсивные показатели рассчитывали по данным формы № 7 «Све-

дения о злокачественных новообразованиях» и материалам Популяционных раковых регистров Санкт-Петербурга (13 117 случаев), Ленинградской (3204 случая) и Калининградской (2898 случаев) областей. Материалы по Санкт-Петербургу включают также сведения о 7257 умерших от указанных ЗНО.

Популяционные раковые регистры велись на основании добровольных информированных согласий пациентов или их законных представителей. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора (протокол № 56 от 26.11.2019).

Метод исследования: ретроспективный эпидемиологический анализ. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета «Statistica v. 12» («StatSoft»). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Расчёт доверительных интервалов (ДИ) показателей заболеваемости и смертности проводили с помощью программы «WinPepi v. 11.65».

Результаты

Среди всех ЗНО, выявленных в 2011–2020 гг., ВПЧ-ассоциированные неоплазии у мужчин и женщин занимали в Санкт-Петербурге 5,1% (95% ДИ 5,07–5,36) и 5,7% (95% ДИ 5,67–5,92), в Калининградской области — 6,6% (95% ДИ 6,25–7,04) и 8,6%

(95% ДИ 8,19–8,98) соответственно, региональные и гендерные различия статистически значимы ($p < 0,05$). Анализ структуры по локализации опухолевого процесса ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, среди мужского и женского населения указанных территорий СЗФО в целом показал наличие общих закономерностей (таблица). У мужчин наибольшую долю ЗНО полости рта, миндалин, ротоглотки, гортани составили в Санкт-Петербурге (92,7%), Калининградской (92,1%) и Ленинградской (93,9%) областях. В структуре ВПЧ-ассоциированных ЗНО среди женщин преобладает РШМ, доля которого превысила 60–70%. Актуальной проблемой во всех регионах является рак гортани среди мужского населения, в Ленинградской области ЗНО этой локализации встречались среди мужчин чаще в 8,8 раза, в Санкт-Петербурге — в 11,6 раза, в Калининградской области — в 19,3 раза. Анальный рак на всех изученных территориях чаще регистрируется у женщин, различия по сравнению с мужчинами статистически значимы ($p < 0,05$). Доля неоплазий данной локализации по регионам существенно не отличалась. Рак влагалища и полового члена среди ВПЧ-ассоциированных ЗНО в субъектах СЗФО также занимает примерно одинаковые позиции, если оценивать показатели распределения. Некоторые региональные различия были выявлены в частоте регистрации рака гортани, вульвы и шейки матки.

Структура ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, у мужчин и женщин в Санкт-Петербурге и Калининградской области в 2011–2020 гг.

Structure of cancers associated with human papillomavirus in men and women in St. Petersburg and Kaliningrad region in 2011–2020

Локализация Localization	Санкт-Петербург St. Petersburg						Калининградская область Kaliningrad region					
	мужчины men			женщины women			мужчины men			женщины women		
	<i>n</i>	%	95% ДИ 95% CI	<i>n</i>	%	95% ДИ 95% CI	<i>n</i>	%	95% ДИ 95% CI	<i>n</i>	%	95% ДИ 95% CI
Полость рта Oral cavity	1927	38,3	36,56–40,00	937	11,6	10,87–12,37	348	32,2	28,82–35,66	157	8,6	7,35–10,12
Миндалины и ротоглотка Tonsils and oropharynx	879	17,4	16,31–18,64	289	3,6	3,18–4,01	189	17,4	15,04–20,11	57	3,1	2,38–4,07
Гортань Larynx	1863	37,0	35,32–38,70	258	3,2	2,82–3,61	461	42,5	38,73–46,59	40	2,2	1,58–3,00
Анальный канал Anal canal	143	2,8	2,39–3,34	485	6,0	5,48–6,56	27	2,5	1,64–3,62	108	6,0	4,88–7,19
Вульва Vulva				845	10,4	9,77–11,19				134	7,4	6,19–8,75
Влагалище Vagina				186	2,3	1,98–2,66				39	2,2	1,53–2,94
Шейка матки Cervix				5079	62,9	61,15–64,62				1279	70,5	66,70–74,48
Половой член Penis	226	4,5	3,92–5,11				59	5,4	4,14–7,02			
Всего Total	5038	100,0		8079	100,0		1084	100,0		1814	100,0	

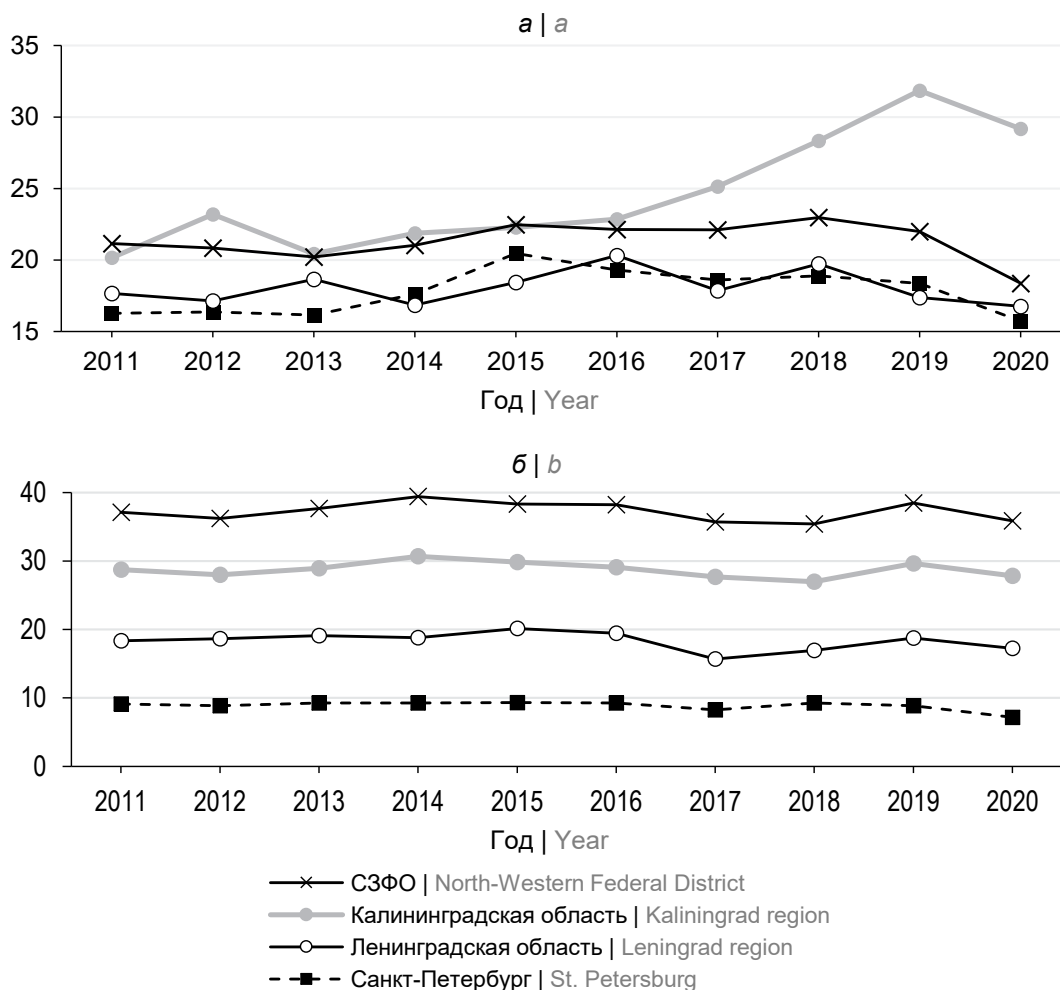


Рис. 1. Заболеваемость (а) и смертность (б) от РШМ в регионах СЗФО в 2011–2020 гг., на 100 тыс. женского населения.

Fig. 1. Cervical cancer incidence (a) and mortality (b) in the regions of the North-Western Federal District of Russia in 2011–2020, per 100,000 female population.

Анализ заболеваемости РШМ в регионах СЗФО в 2011–2020 гг. показал наличие региональных особенностей (рис. 1, а). В целом по округу показатели заболеваемости РШМ варьировали от 18,37 (95% ДИ 17,60–19,12) на 100 тыс. женского населения в 2020 г. до 22,97 (95% ДИ 22,13–23,84) в 2018 г. В Санкт-Петербурге уровень заболеваемости был ниже, минимальные и максимальные показатели составили 15,72 (95% ДИ 14,31–17,20) на 100 тыс. женского населения в 2020 г. и 20,46 (95% ДИ 18,80–22,19) в 2015 г. ($p < 0,05$), в 10-летнем отрезке времени тенденция к росту заболеваемости не выявлена. В Ленинградской области заболеваемость РШМ существенно не отличалась от уровней в Санкт-Петербурге, в 2011–2020 гг. показатели в этом регионе варьировали от 16,76 (95% ДИ 14,32–19,52) на 100 тыс. женского населения в 2020 г. до 20,32 (95% ДИ 17,54–23,40) в 2016 г. ($p > 0,05$). В Калининградской области отмечается тенденция к росту заболеваемости от 20,16 (95% ДИ 17,02–25,39) на 100 тыс. женского населения в 2011 г.

до 29,18 (95% ДИ 25,78–35,47) в 2020 г. ($p < 0,05$). В 2020 г. в условиях эпидемии COVID-19 заболеваемость снизилась на всех территориях.

Показатели смертности от РШМ (рис. 1, б) на территории СЗФО в изученный период составили от 8,03 (95% ДИ 7,58–8,59) до 9,14 (95% ДИ 8,60–9,68) на 100 тыс. женского населения. В Санкт-Петербурге, Ленинградской и Калининградской областях смертность от РШМ была на уровне округа в целом — от 7,18 (95% ДИ 6,24–8,21) до 9,33 (95% ДИ 8,25–10,53), от 7,41 (95% ДИ 5,78–9,36) до 10,81 (95% ДИ 8,81–13,12), от 9,32 (95% ДИ 6,84–12,50) до 11,99 (95% ДИ 9,11–15,46) на 100 тыс. женского населения соответственно. Тенденции к росту показателей смертности от РШМ в округе и указанных регионах в течение 10 лет не выявлено.

Изучение региональных и гендерных особенностей рака ротоглотки (код МКБ-10 С10) в СЗФО показало, что среди мужчин (рис. 2, а) в 2011–2020 гг. уровни заболеваемости варьировали от 2,32 (95% ДИ 2,01–2,65) до 3,24 (95% ДИ 3,04–3,82) на 100 тыс.

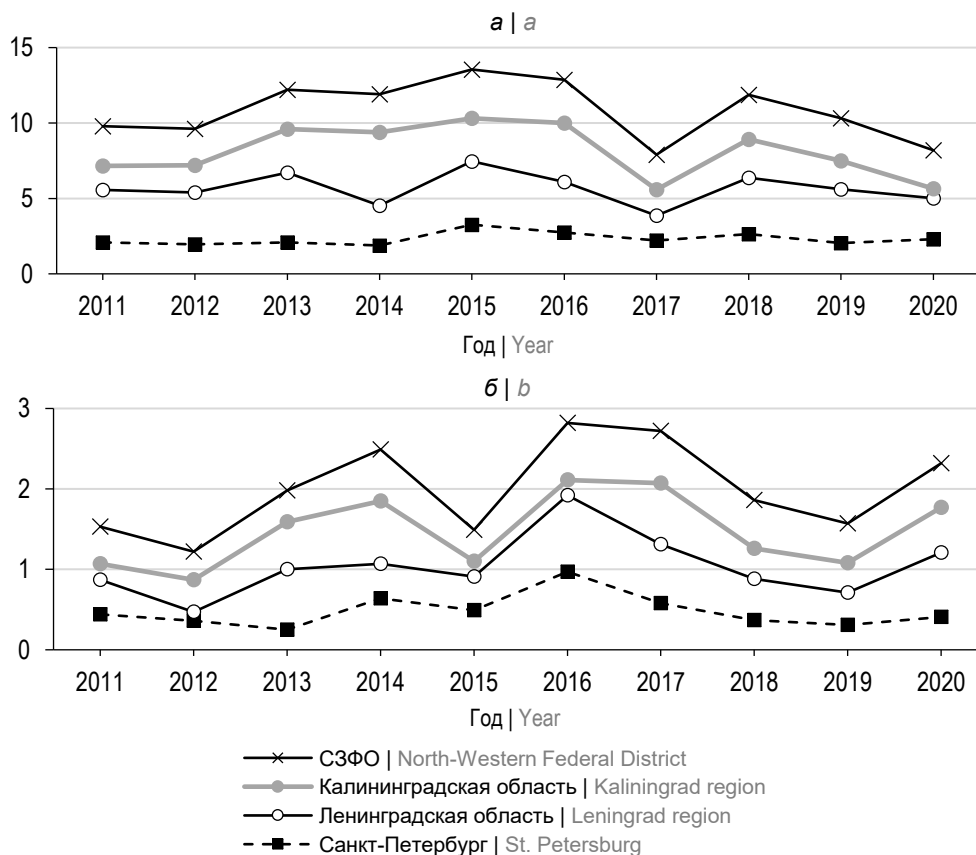


Рис. 2. Заболеваемость раком ротоглотки среди мужского (а) и женского (б) населения в регионах СЗФО в 2011–2020 гг., на 100 тыс. человек.

Fig. 2. Oropharyngeal cancer incidence among male (a) and female (b) populations in the regions of the North-Western Federal District of Russia in 2011–2020, per 100,000 population.

мужского населения, среди женщин (рис. 2, б) — от 0,35 (95% ДИ 0,26–0,48) до 0,71 (95% ДИ 0,57–0,88) на 100 тыс. женского населения, различия статистически значимы ($p < 0,05$), заболеваемость мужского населения была выше в 4,6–6,6 раза.

В Санкт-Петербурге, Ленинградской и Калининградской областях заболеваемость раком ротоглотки также была выше среди мужчин, показатели варьировали, достигая в разные годы максимальных значений 3,26 (95% ДИ 2,58–4,08), 4,61 (95% ДИ 3,24–6,33) и 4,85 (95% ДИ 3,12–7,28) на 100 тыс. мужского населения соответственно, различия статистически не значимы ($p > 0,05$). Среди женщин максимальные уровни заболеваемости составили в Санкт-Петербурге 0,97 (95% ДИ 0,65–1,41) на 100 тыс. женского населения, в Ленинградской области — 0,95 (95% ДИ 0,43–1,81), в Калининградской области — 0,78 (95% ДИ 0,19–2,04). Устойчивой тенденции к росту заболеваемости мужского и женского населения в указанных регионах в изученном отрезке времени не наблюдается.

При анализе заболеваемости раком вульвы (рис. 3, а) в СЗФО в течение 10 лет установлены статистически значимые различия в минимальном и максимальном показателях — 2,38 в 2011 г.

(95% ДИ 2,08–2,67) на 100 тыс. женского населения и 3,28 в 2019 г. (95% ДИ 2,98–3,63). В Санкт-Петербурге, Ленинградской и Калининградской областях заболеваемость ЗНО этой локализации существенно не отличалась от уровня по округу в целом и не имела статистически значимой тенденции к росту.

Заболеваемость раком влагалища в СЗФО характеризовалась более низкими уровнями — от 0,55 (95% ДИ 0,43–0,70) на 100 тыс. женского населения в 2016 г. до 0,92 (95% ДИ 0,77–1,11) в 2019 г. и в период 2011–2020 гг. не имела тенденции к росту (рис. 3, б). В Санкт-Петербурге и Ленинградской области показатели и динамика заболеваемости существенно не отличались от округа в целом, в последнем регионе наблюдалось снижение заболеваемости, однако различия оказались статистически не значимы ($p > 0,05$). В Калининградской области отмечено увеличение уровня заболеваемости от 0,20 (95% ДИ 0,01–1,15) на 100 тыс. женского населения в 2011 г. до 1,67 (95% ДИ 0,73–3,23) в 2020 г. ($p > 0,05$).

Важные результаты получены при изучении возрастной структуры больных РШМ в регионах СЗФО. В Санкт-Петербурге среди впервые выявленных больных с диагнозом РШМ в 2011–2020 гг.

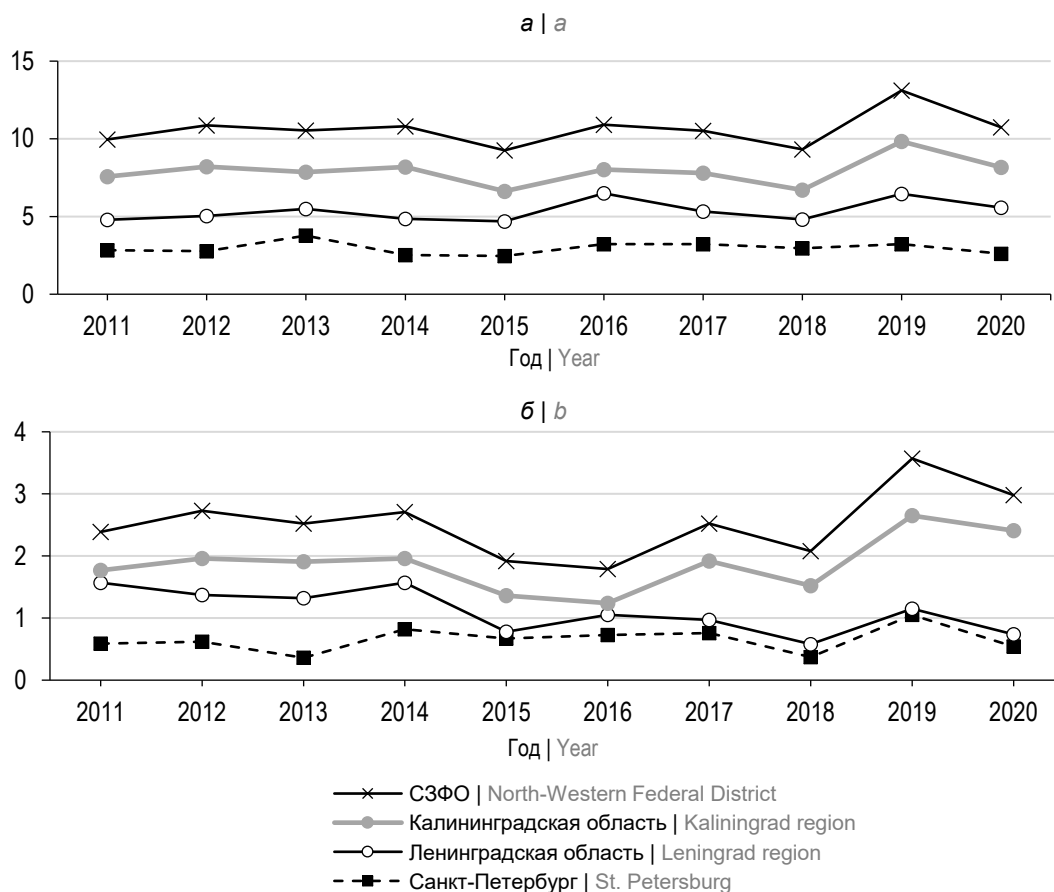


Рис. 3. Заболеваемость раком вульвы (а) и влагалища (б) в регионах СЗФО в 2011–2020 гг. на 100 тыс. женского населения.

Fig. 3. Vulvar (a) and vaginal (b) cancer incidence in the regions of the North-Western Federal District of Russia in 2011–2020, per 100,000 female population.

доля женщин репродуктивного возраста достигла 39,6%, в Ленинградской и Калининградской областях эти показатели были значительно выше — 46,5 и 45,5% соответственно ($p < 0,05$). Необходимо также отметить, что из числа умерших от РШМ в Санкт-Петербурге 27,7% составили женщины в возрасте 15–49 лет. При сравнении показателей и динамики заболеваемости различных возрастных групп женского населения в Санкт-Петербурге (рис. 4, а) и Калининградской области (рис. 4, б) выявлены некоторые региональные особенности. Единичные случаи РШМ регистрируются в возрастной группе 15–19 лет в обоих регионах. Среди женщин в возрасте 20–29 лет в Санкт-Петербурге показатели заболеваемости варьировали от 2,28 (95% ДИ 1,09–4,19) на 100 тыс. женского населения указанного возраста до 3,55 (95% ДИ 1,94–5,27), в Калининградской области — от 1,2 (95% ДИ 0,05–2,90) до 4,4 (95% ДИ 1,10–7,70), наблюдается увеличение заболеваемости, однако в 10-летнем отрезке времени различия статистически не значимы ($p > 0,05$).

В возрастной группе 30–39 лет в Санкт-Петербурге отмечено снижение заболеваемости РШМ от 20,92 (95% ДИ 16,61–26,00) на 100 тыс. женского

населения указанного возраста в 2011 г. до 11,16 (95% ДИ 8,45–14,46) в 2020 г. В Калининградской области выявлена тенденция к росту заболеваемости женщин этого возраста, показатели в 2020 г. по сравнению с 2011 г. увеличились в 2,5 раза от 15,2 (95% ДИ 6,01–24,50) на 100 тыс. женского населения указанного возраста до 39,0 (95% ДИ 25,40–52,60), различия статистически значимы ($p < 0,05$). Среди женщин 40–49 лет в течение всего изученного периода зарегистрированы самые высокие уровни заболеваемости РШМ, достигшие в Санкт-Петербурге 38,19 (95% ДИ 32,17–45,01) на 100 тыс. женского населения указанного возраста в 2016 г., в Калининградской области — 58,3 (95% ДИ 40,90–75,70) в 2020 г. В старших возрастных группах в регионах сохраняется высокая заболеваемость РШМ.

На рис. 5 представлены результаты изучения гендерных и возрастных особенностей заболеваемости раком анального канала на примере Санкт-Петербурга. Заболеваемость женщин отличается более высокими показателями, различия составили 2,8–4,2 раза, и имеет статистически значимую тенденцию к росту от 1,18 (95% ДИ 0,81–1,66) на 100 тыс. женского населения в 2011 г. до 2,37 (95%

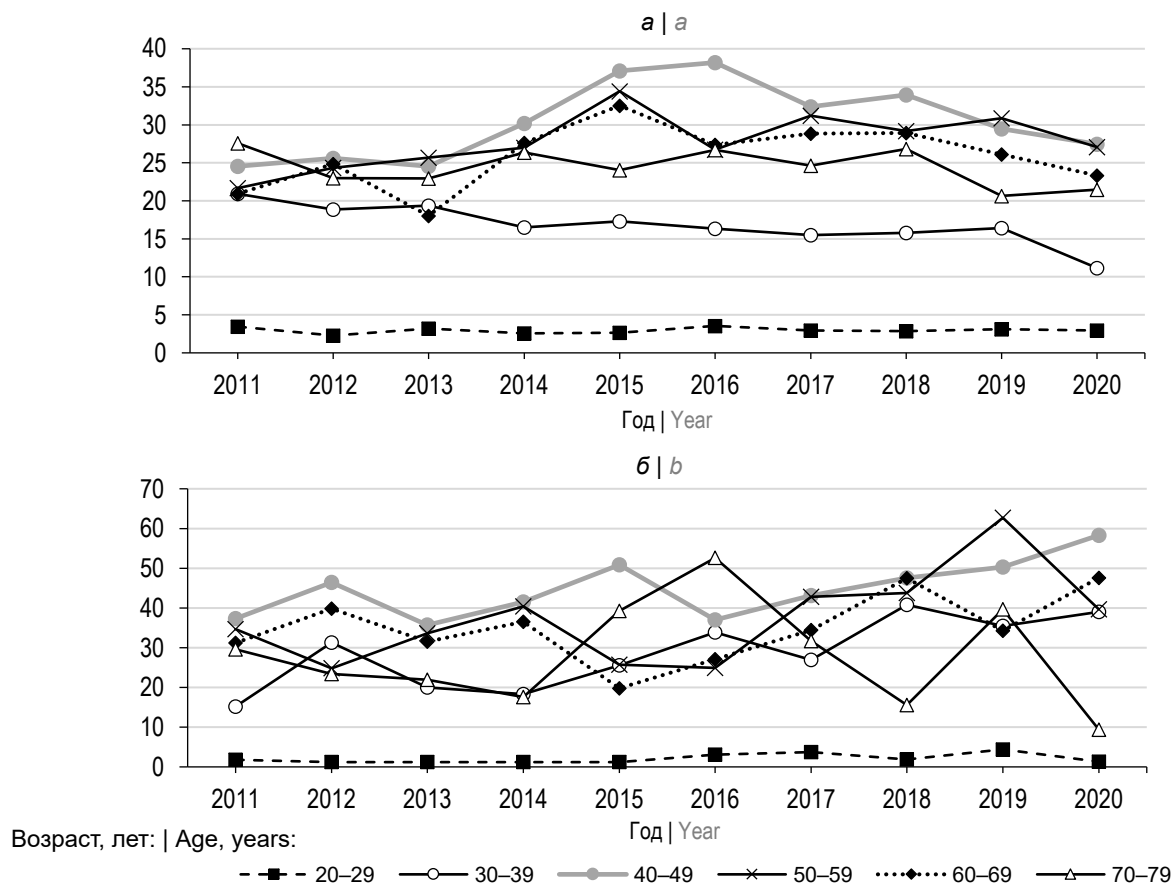


Рис. 4. Заболеваемость РШМ в различных возрастных группах женского населения Санкт-Петербурга (а) и Калининградской области (б) в 2011–2020 гг. на 100 тыс. женского населения указанного возраста.
Fig. 4. Cervical cancer incidence in various age groups of the female population of St. Petersburg (a) and Kaliningrad region (b) in 2011–2020, per 100,000 female population the same age.

ДИ 1,85–2,99) в 2020 г. Первые случаи заболевания выявлены в возрастной группе 30–39 лет. Самые высокие показатели заболеваемости отмечаются в возрасте 60–69 и 70–79 лет как среди мужчин, так и среди женщин.

Результаты анализа показателей смертности от РШМ и анального канала различных возрастных групп населения также характеризуют важное социальное и медицинское значение ЗНО, ассоциированных с ВПЧ. В Санкт-Петербурге зарегистрировано более 700 случаев летального исхода от РШМ среди женщин в возрасте до 49 лет, в том числе 25 случаев в группе 20–29 лет. Наиболее высокие показатели смертности отмечались в возрастных группах 50–59 и 60–69 лет, составившие 26,7 (95% ДИ 20,85–33,67) и 24,4 (95% ДИ 18,86–31,15) на 100 тыс. женского населения указанного возраста (рис. 6). Тенденция к росту уровня смертности во всех возрастных категориях в 2011–2020 гг. не выявлена.

Анализ смертности от рака анального канала различных возрастных групп мужского (рис. 7, а) и женского (рис. 7, б) населения Санкт-Петербурга показал, что случаи летального исхода встречаются в возрасте 30–39 и 40–49 лет.

Среди женщин показатели заболеваемости и смертности от рака этой локализации выше, чем у мужчин. Наиболее высокие уровни смертности в изученный период были в возрастных группах 60–69 и 70–79 лет как среди мужского, так и женского населения. Отмечается увеличение показателей смертности в 2016–2020 гг. среди мужчин в возрасте 60–69 лет и женщин 70–79 лет, различия статистически не значимы ($p > 0,05$).

Обсуждение

ЗНО, ассоциированные с ВПЧ, относятся к числу актуальных проблем в мире и России [2, 4, 7, 17, 22]. Изучение региональных особенностей заболеваемости и смертности от ВПЧ-ассоциированных ЗНО необходимо для обоснования и оценки эффективности программ вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции. Согласно опубликованным данным в мире 4,5% случаев рака были связаны с ВПЧ определённых генотипов [3], в России ЗНО, ассоциированные с ВПЧ, составили более 5% в структуре общей онкологической заболеваемости [18]. В результате проведённого нами исследования выявлены статистически значимые

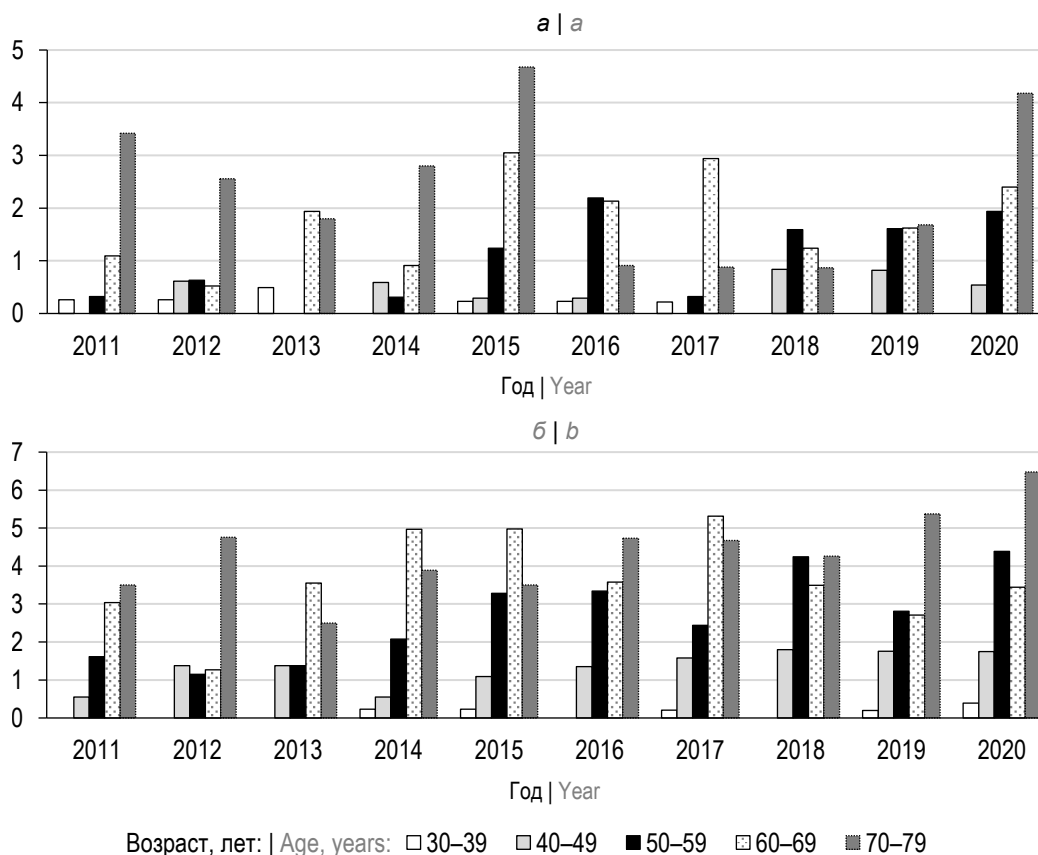


Рис. 5. Заболеваемость раком анального канала в различных возрастных группах мужского (а) и женского (б) населения Санкт-Петербурга в 2011–2020 гг.

Fig. 5. Anal cancer incidence in various age groups of the male (a) and female (b) population of St. Petersburg in 2011–2020.

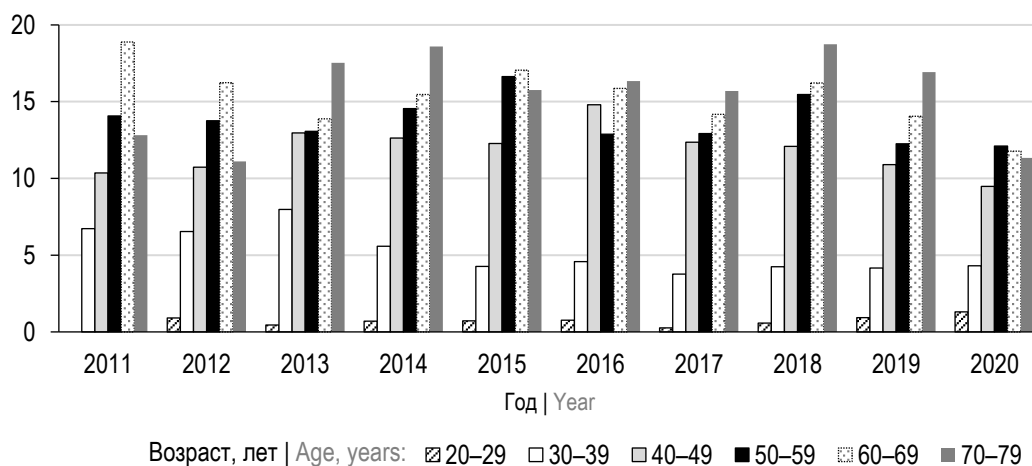


Рис. 6. Смертность от РШМ различных возрастных групп женского населения Санкт-Петербурга в 2011–2020 гг.

Fig. 6. Cervical cancer associated mortality of various age groups of the female population of St. Petersburg in 2011–2020.

региональные и гендерные различия этого показателя среди всех ЗНО, диагностированных у мужчин и женщин в 2011–2020 гг., ВПЧ-ассоциированные неоплазии занимали в Санкт-Петербурге 5,1 и 5,7%, в Калининградской области — 6,6 и 8,6% соответственно.

Анализ опубликованных данных показал наличие гендерных и возрастных особенностей ВПЧ-ас-

социированных ЗНО [4, 5, 7]. Авторы отмечают более высокую заболеваемость мужчин раком полости рта, глотки, гортани [7, 13]. В результате проведенного нами исследования также установлено, что на территории СЗФО ЗНО, ассоциированные с ВПЧ, этих локализаций занимают среди мужского населения основную долю, а показатели заболеваемости были в 4–6 раз выше по сравнению с женщинами.

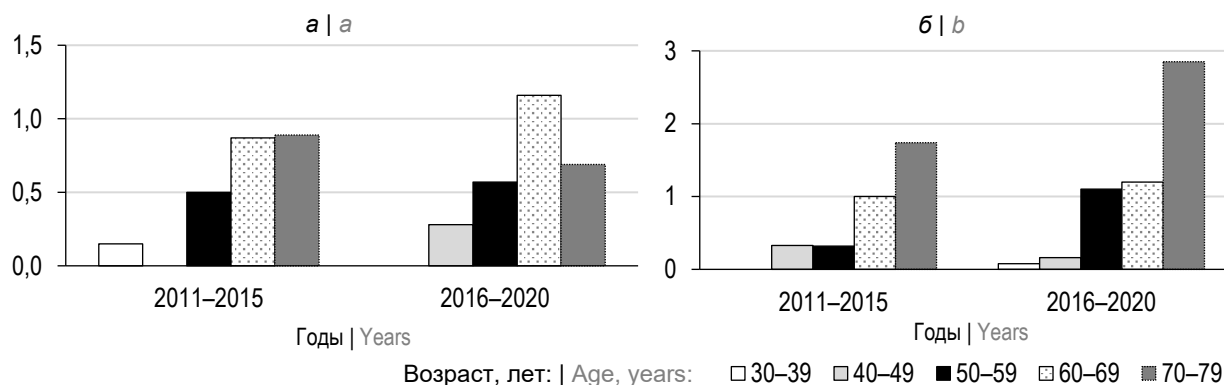


Рис. 7. Смертность от рака анального канала различных возрастных групп мужского (а) и женского (б) населения Санкт-Петербурга в 2011–2020 гг.

Fig. 7. Anal cancer associated mortality in various age groups of male (a) and female (b) population of St. Petersburg in 2011–2020.

Обсуждая актуальность проблемы рака анального канала, исследователи указывают на тенденцию к росту заболеваемости с высокими темпами ежегодного прироста показателей [8] и высокую летальность [14]. В Санкт-Петербурге минимальные и максимальные уровни заболеваемости и смертности от неоплазии указанной локализации среди женщин были выше по сравнению с мужчинами, за 10 лет заболеваемость женского населения увеличилась в 2 раза. Сравнение с другими опубликованными данными на территории России затруднено, поскольку в форме государственного статистического наблюдения сведения о заболеваемости ЗНО анального канала объединены в группу «прямая кишка, ректосигмоидное соединение, анус». Объективная оценка показателей возможна при наличии в регионе популяционного ракового регистра.

Наиболее актуальной проблемой ЗНО, ассоциированных с ВПЧ, среди женщин в мире и России является РШМ [7, 11, 21, 23]. Это относится к показателям как заболеваемости, так и смертности, многие исследователи отмечают смещение заболеваемости на более молодые возрастные группы. В регионах СЗФО эта проблема также актуальна. В структуре ВПЧ-ассоциированных ЗНО среди женского населения РШМ занимает более 60–70%. Доля женщин репродуктивного возраста у впервые выявленных больных в Ленинградской и Калининградской областях превышает 45%. В Калининградской области отмечается статистически значимая тенденция к росту заболеваемости женщин в возрасте 30–39 лет. Наиболее высокие уровни заболеваемости в изученных регионах наблюдались в возрастной группе 40–49 лет, смертности — 50–59 лет. Из числа умерших от РШМ в Санкт-Петербурге более 27% составили женщины в возрасте 15–49 лет.

Обоснование актуальности и социальной значимости ВПЧ-ассоциированных ЗНО, в первую очередь РШМ, в России явилось основой для совер-

шения вакцинации вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции в нашей стране [20–22]. В 2020 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала глобальную стратегию элиминации РШМ как проблемы общественного здравоохранения [23]. Это стало возможным благодаря доказанной эффективности вакцинации против ВПЧ [25–28].

Выводы

1. Структура ВПЧ-ассоциированных ЗНО имеет гендерные особенности: среди мужчин наибольшую долю занимает рак головы и шеи (полость рта, миндалины, ротоглотка, гортань), опухоли этой локализации в Санкт-Петербурге составили 92,7%, в Калининградской области — 92,1%, в Ленинградской области — 93,9%; среди женщин наиболее часто регистрируется РШМ (от 60 до 70% в указанных регионах СЗФО; $p < 0,05$).

2. Региональные особенности установлены в уровнях и тенденциях заболеваемости РШМ, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 2011–2020 гг. показатели были ниже по сравнению с СЗФО в целом, в 10-летнем отрезке времени тенденция к росту не выявлена; в Калининградской области отмечается статистически значимая тенденция к росту заболеваемости РШМ, в том числе у женщин в возрасте 30–39 лет ($p < 0,05$); среди впервые выявленных больных с диагнозом РШМ доля женщин репродуктивного возраста в Санкт-Петербурге составила 39,6%, в Ленинградской области — 46,5%, в Калининградской области — 45,5% ($p < 0,05$).

3. Заболеваемость раком ротоглотки мужчин выше в 4,6–6,6 раза по сравнению с женщинами, показатели варьировали от 3,26 до 4,85 на 100 тыс. населения соответствующего пола; среди женщин максимальные уровни заболеваемости в Санкт-Петербурге составили 0,97, в Ленинградской области — 0,95, в Калининградской области — 0,78; в течение 10 лет заболеваемость мужского и женского

населения в указанных регионах не имела тенденции к снижению.

4. Рак анального канала чаще регистрируется среди женщин, в Санкт-Петербурге показатели заболеваемости были в 2,8–4,2 раза выше, чем у мужчин, с тенденцией к росту от 1,18 на 100 тыс. женского населения в 2011 г. до 2,37 в 2020 г. ($p = 0,001$), самые высокие показатели заболеваемости отмечаются в возрасте 60–69 и 70–79 лет как среди мужчин, так и среди женщин.

5. Показатели смертности от ВПЧ-ассоциированных ЗНО согласуются с уровнями заболеваемости: наиболее высокие показатели смертности от РШМ в Санкт-Петербурге отмечались в возрастных группах 50–59 и 60–69 лет и составили 26,7 и 24,4 на 100 тыс. женского населения, тенденции к снижению смертности в 2011–2020 гг. не выявлено.

Заключение

В результате проведённого исследования установлены общие закономерности и особенности заболеваемости ЗНО, ассоциированными с ВПЧ, на Северо-Западе России. Эти данные являются основой для оптимизации системы эпидемиологического надзора и вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции. В России принята Стратегия развития иммунопрофилактики инфекционных заболеваний до 2035 г., которая предусматривает совершенствование вакцинации против папилломавирусной инфекции, что создаёт предпосылки для поэтапного снижения заболеваемости и в перспективе элиминации ЗНО, связанных с ВПЧ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Morales-Sánchez A., Fuentes-Pananá E. Human viruses and cancer. *Viruses*. 2014; 6(10): 4047–79. <https://doi.org/10.3390/v6104047>
- Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W., eds. *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2020.
- De Martel C., Plummer M., Vignat J., Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *IJC*. 2017; 141(4): 664–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>
- World Cancer Research Fund International. Worldwide cancer data – 2020. Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/worldwide-cancer-data/>
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209–9. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Taylor D.E., Henley S.J., Senkomago V., O’Neil M.E., Wilson R.J., Singh S., et al. Trends in incidence of cancers of the oral cavity and pharynx – United States 2007–2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(15): 433–8. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6915a1>
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность)*. М.; 2021.
- Heer E., Hackl M., Ferlitsch M., Waldhoer T., Yang L. Trends in incidence of anal cancer in Austria, 1983–2016. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2020; 132(15): 438–43. <https://doi.org/10.1007/s00508-020-01622-z>
- Hami L.T., Lampe B., Mallmann P., Forner D.M. The impact of age on the prognosis of vulvar cancer. *Oncol. Res. Treat.* 2018; 41(9): 520–4. <https://doi.org/10.1159/000488800>
- Vaginal cancer incidence statistics. Cancer Research UK; 2020. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/vaginal-cancer/incidence#heading-One>.
- Arbyn M., Weiderpass E., Bruni L., de Sanjosé S., Saraiya M., Ferlay J., et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Glob. Health.* 2020; 8(2): 191–203. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
- Hansen B.T., Orumaa M., Lie A.K., Brennhovd B., Nygård M. Trends in incidence, mortality and survival of penile squamous cell carcinoma in Norway 1956–2015. *Int. J. Cancer*. 2018; 142(8): 1586–93. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
- Cancer Stat Facts: Oral Cavity and Pharynx Cancer. Surveillance, Epidemiology, and End Results Programme 18, 2010–2016. National Cancer Institute; 2018. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav.html>
- Nelson V.M., Benson A.B. Epidemiology of anal canal cancer. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* 2017; 26(1): 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2016.07.001>
- Mensah F.A., Mehta M.R., Lewis J.S., Lockhart A.C. The human papillomavirus vaccine: current perspective and future role in prevention and treatment of anal Intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Oncologist*. 2016; 21(4): 453–60. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0075>
- Vaginal cancer mortality statistics. Cancer Research UK; 2019. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/vaginal-cancer/mortality#heading-One>
- Брико Н.И., Лопухов П.Д., Каприн А.Д., Новикова Е.Г., Трушина О.И., Халдин А.А. и др. ВПЧ-ассоциированные поражения в Российской Федерации: оценка состояния проблемы. *Современная онкология*. 2019; 21(1): 45–50. <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.190199>
- Костин А.А., Старинский В.В., Самсонов Ю.В., Асратов А.Т. Анализ статистических данных о злокачественных новообразованиях, ассоциированных с вирусом папилломы человека. *Исследования и практика в медицине*. 2016; 3(1): 66–78. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-1-9>
- Нигматуллин Л.М. ВПЧ-ассоциированные онкологические заболевания. *Поволжский онкологический вестник*. 2017; (2): 48–55.
- Лопухов П.Д., Брико Н.И., Халдин А.А., Цапкова Н.Н., Лупашко О.В. Папилломавирусная инфекция: основные характеристики, клинические проявления, вакцинопрофилактика. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; (1): 71–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-71-78>
- Афанасьева Л.Н., Игнатьева М.Е., Лялина Л.В., Саввина Н.В., Сметанина В.Д. Региональный опыт профилактики рака шейки матки в Республике Саха (Якутия). *Инфекция и иммунитет*. 2014; 4(2): 137–42.
- Краснопольский В.И., Зароченцева Н.В., Белая Ю.М., Джиджихия Л.К. Предраковые и злокачественные заболевания, ассоциированные с вирусом папилломы человека. Анализ статистики в Московской области за последнее десятилетие. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2019; 18(6): 113–8. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2019-6-113-118>
- WHO. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. License: CC BY-NC-SA 3.0

- IGO; 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336583>
24. Wang X., Huang X., Zhang Y. Involvement of Human Papillomaviruses in Cervical Cancer. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2896. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02896>
 25. Tanaka H., Shirasawa H., Shimizu D., Sato N., Ooyama N., Takahashi O., et al. Preventive effect of human papillomavirus vaccination on the development of uterine cervical lesions in young Japanese women. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017; 43(10): 1597–601. <https://doi.org/10.1111/jog.13419>
 26. Gertig D.M., Brotherton J.M., Budd A.C., Drennan K., Chappell G., Saville A.M. Impact of a population-based HPV vaccination program on cervical abnormalities: a data linkage study. *BMC Med.* 2013; 11: 227. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-227>
 27. Mahmud S.M., Kliewer E.V., Lambert P., Bozat-Emre S., Demers A.A. Effectiveness of the quadrivalent human papillomavirus vaccine against cervical dysplasia in Manitoba, Canada. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(5): 438–43. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.52.4645>
 28. Chan C.K., Aimagambetova G., Ukybassova T., Kongrtay K., Azizan A. Review article human papillomavirus infection and cervical cancer: epidemiology, screening, and vaccination. Review of current perspectives. *J. Oncol.* 2019; 2019: 3257939. <https://doi.org/10.1155/2019/3257939>
- #### REFERENCES
1. Morales-Sánchez A., Fuentes-Pananá E. Human viruses and cancer. *Viruses.* 2014; 6(10): 4047–79. <https://doi.org/10.3390/v6104047>
 2. Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W., eds. *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2020.
 3. De Martel C., Plummer M., Vignat J., Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *IJC.* 2017; 141(4): 664–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>
 4. World Cancer Research Fund International. Worldwide cancer data – 2020. Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/worldwide-cancer-data/>
 5. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209–9. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
 6. Taylor D.E., Henley S.J., Senkomago V., O’Neil M.E., Wilson R.J., Singh S., et al. Trends in incidence of cancers of the oral cavity and pharynx – United States 2007–2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(15): 433–8. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6915a1>
 7. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadova A.O. *Malignant Neoplasms in Russia in 2020 (Morbidity and Mortality) [Zloachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow; 2021. (In Russian)
 8. Heer E., Hackl M., Ferlitsch M., Waldhoer T., Yang L. Trends in incidence of anal cancer in Austria, 1983–2016. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2020; 132(15): 438–43. <https://doi.org/10.1007/s00508-020-01622-z>
 9. Hami L.T., Lampe B., Mallmann P., Forner D.M. The impact of age on the prognosis of vulvar cancer. *Oncol. Res. Treat.* 2018; 41(9): 520–4. <https://doi.org/10.1159/000488800>
 10. Vaginal cancer incidence statistics. Cancer Research UK; 2020. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/vaginal-cancer/incidence#heading-One>.
 11. Arbyn M., Weiderpass E., Bruni L., de Sanjosé S., Saraiya M., Ferlay J., et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Glob. Health.* 2020; 8(2): 191–203. [http://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](http://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
 12. Hansen B.T., Oruma M., Lie A.K., Brennhovd B., Nygård M. Trends in incidence, mortality and survival of penile squamous cell carcinoma in Norway 1956–2015. *Int. J. Cancer.* 2018; 142(8): 1586–93. [http://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30482-6](http://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30482-6)
 13. Cancer Stat Facts: Oral Cavity and Pharynx Cancer. Surveillance, Epidemiology, and End Results Programme 18, 2010–2016. National Cancer Institute; 2018. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav.html>
 14. Nelson V.M., Benson A.B. Epidemiology of anal canal cancer. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* 2017; 26(1): 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2016.07.001>
 15. Mensah F.A., Mehta M.R., Lewis J.S., Lockhart A.C. The human papillomavirus vaccine: current perspective and future role in prevention and treatment of anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Oncologist.* 2016; 21(4): 453–60. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0075>
 16. Vaginal cancer mortality statistics. Cancer Research UK; 2019. Available at: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/vaginal-cancer/mortality#heading-One>
 17. Briko N.I., Lopukhov P.D., Kaprin A.D., Novikova E.G., Trushina O.I., Khaldin A.A., et al. HPV-associated lesions in the Russian Federation: assessment of the problem. *Sovremennaya onkologiya.* 2019; 21(1): 45–50. <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.190199> (in Russian)
 18. Kostin A.A., Starinskiy V.V., Samsonov Yu.V., Asratov A.T. The analysis of statistical data on malignant neoplasms associated with human papillomavirus. *Issledovaniya i praktika v meditsine.* 2016; 3(1): 66–78. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-1-9> (in Russian)
 19. Nigmatullin L.M. HPV-associated oncologic diseases. *Povolzhskiy onkologicheskii vestnik.* 2017; (2): 48–55. (in Russian)
 20. Lopukhov P.D., Briko N.I., Khaldin A.A., Tsapkova N.N., Lupashko O.V. Papillomavirus infection: principal characteristics, clinical manifestations, vaccine prophylaxis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2016; (1): 71–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-71-78> (in Russian)
 21. Afanas'eva L.N., Ignat'eva M.E., Lyalina L.V., Savvina N.V., Smetanina V.D. Regional experience of cervical cancer prevention in the Republic of Sakha (Yakutia). *Infektsiya i immunitet.* 2014; 4(2): 137–42. (in Russian)
 22. Krasnopol'skiy V.I., Zarochentseva N.V., Belaya Yu.M., Dzidzhikhhiya L.K. Precancerous and malignant conditions associated with human papillomavirus. Analysis of statistics in the Moscow region over the past decade. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii.* 2019; 18(6): 113–8. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2019-6-113-118> (in Russian)
 23. WHO. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO; 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336583>
 24. Wang X., Huang X., Zhang Y. Involvement of Human Papillomaviruses in Cervical Cancer. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2896. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02896>
 25. Tanaka H., Shirasawa H., Shimizu D., Sato N., Ooyama N., Takahashi O., et al. Preventive effect of human papillomavirus vaccination on the development of uterine cervical lesions in young Japanese women. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017; 43(10): 1597–601. <http://doi.org/10.1111/jog.13419>
 26. Gertig D.M., Brotherton J.M., Budd A.C., Drennan K., Chappell G., Saville A.M. Impact of a population-based HPV vaccination program on cervical abnormalities: a data linkage study. *BMC Med.* 2013; 11: 227. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-227>

27. Mahmud S.M., Kliewer E.V., Lambert P., Bozat-Emre S., Demers A.A. Effectiveness of the quadrivalent human papillomavirus vaccine against cervical dysplasia in Manitoba, Canada. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32(5): 438–43. <http://doi.org/10.1200/JCO.2013.52.4645>
28. Chan C.K., Aimagambetova G., Ukybassova T., Kongrtay K., Azizan A. Review article human papillomavirus infection and cervical cancer: epidemiology, screening, and vaccination. Review of current perspectives. *J. Oncol.* 2019; 2019: 3257939. <https://doi.org/10.1155/2019/3257939>

Информация об авторах

Лялина Людмила Владимировна[✉] — д.м.н., профессор, зав. лаб. эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний, НИИЭИМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, lvlyalina777@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9921-3505>

Холопов Дмитрий Вячеславович — аспирант НИИЭИМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1268-6172>

Язенок Аркадий Витальевич — д.м.н., доцент, директор Медицинского информационно-аналитического центра, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1334-8191>

Хижа Валентин Васильевич — к.м.н., начальник отдела медицинской статистики опухолевых заболеваний Медицинского информационно-аналитического центра, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4218-0228>

Топузов Эльдар Эскендерович — д.м.н., профессор, главный врач Городского клинического онкологического диспансера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1700-1128>

Касаткин Евгений Владимирович — к.м.н., главный врач Кожно-венерологического диспансера № 8, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0029-7150>

Горяев Евгений Александрович — зав. отделом профилактики Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6842-7201>

Задоркина Татьяна Геннадьевна — к.м.н., главный врач Центра специализированных видов медицинской помощи Калининградской области, Калининград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2905-2635>

Молчанова Жанна Руслановна — главный специалист эксперт отдела эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Управления Роспотребнадзора по Калининградской области, Калининград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2704-7832>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 14.11.2022;
принята к публикации 21.01.2023;
опубликована 28.02.2023

Information about the authors

Liudmila V. Lyalina[✉] — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of the epidemiology of infectious and non-infectious diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, lvlyalina777@yandex.ru <https://orcid.org/0000-0001-9921-3505>

Dmitry V. Kholopov — postgraduate student, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1268-6172>

Arkady V. Yazenok — Cand. Sci. (Med.), Associated Professor, director, Medical Information and Analytical Center, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1334-8191>

Valentin V. Khizha — Cand. Sci. (Med.), Head, Department of medical statistics of tumor diseases, Medical information and analytical center, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4218-0228>

Eldar E. Topuzov — D. Sci. (Med.), Professor, chief doctor, St. Petersburg City Oncology Clinic, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1700-1128>

Evgeny V. Kasatkin — Cand. Sci. (Med.), chief doctor, Skin and Venereological Dispensary No. 8, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0029-7150>

Evgeny A. Goryaev — Head, Prevention department, Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases of the Leningrad Region, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6842-7201>

Tatiana G. Zadorkina — Cand. Sci. (Med.), chief doctor, Center for Specialized Types of Medical Care of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2905-2635>

Zhanna R. Molchanova — chief specialist expert, Department of epidemiological surveillance and sanitary protection of the territory, Office of Russian Consumer Supervision in the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2704-7832>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 14.11.2022;
accepted for publication 21.01.2023;
published 28.02.2023



Стандартное определение клинического случая эпидемического паротита и диагностическая эффективность применяемых тест-систем в современный период

Семериков В.В.^{1✉}, Софронова Л.В.¹, Постановова Н.О.¹, Юминова Н.В.², Долгова Е.И.², Воробьева Н.Н.¹

¹Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия;

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Аннотация

Актуальность. Регистрация периодических эпидемических вспышек паротитной инфекции среди лиц молодого возраста на фоне многолетней практики вакцинопрофилактики, затруднения в клинической диагностике заболевания в связи с выявлением атипичных и стёртых форм, наличие особенностей клинических проявлений у взрослых с выявлением тяжёлого течения инфекции обуславливают необходимость повышения качества диагностики заболевания.

Цель работы — разработать стандартное определение клинического случая эпидемического паротита и провести сравнительную оценку эффективности применяемых диагностических тест-систем с определением их чувствительности и специфичности.

Материалы и методы. Для разработки стандартного определения клинического случая эпидемического паротита при выявлении сочетанных клинико-лабораторных показателей ($n = 10$) методом логистической регрессии построена математическая модель. В исследование включены 84 пациента с паротитной инфекцией (основная группа) и 66 — с неэпидемическим сиалоаденитом (группа сравнения). Для сравнительной оценки чувствительности, специфичности, диагностической эффективности тест-систем «ВектоПаротит-IgM», «ВектоПаротит-IgG», «ИФА-Паротит-IgM», «ИФА-Паротит-IgG», «Anti-Mumps Virus ELISA-IgM», «Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» исследованы в динамике сыворотки крови пациентов ($n = 41$) с диагнозом «эпидемический паротит?».

Результаты и обсуждение. Клинический симптом «сухость во рту» увеличивал шанс установления диагноза эпидемического паротита в 13,7 раза, наличие двустороннего поражения слюнных желез — в 6,5 раза, повышение уровня диастазы в моче — в 3,2 раза. Коэффициент детерминации составил $R^2 = 61,1$; чувствительность — 93%, специфичность — 67% ($p < 0,001$). Диагностическая эффективность систем «Anti-Mumps Virus ELISA-IgM» составила 74,3%, «ВектоПаротит-IgM» — 65,8%, «ИФА-Паротит-IgM» — 59,4%, «Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» — 84,4%; «ИФА-Паротит-IgG» — 87,2%; «ВектоПаротит-IgG» — 88,5%.

Заключение. Одновременное наличие у пациента двустороннего поражения слюнных желез, сухости во рту, повышения уровня диастазы в моче позволяло с вероятностью 81% устанавливать клинический диагноз эпидемического паротита. Для определения уровня специфических IgG-антител к вирусу эпидемического паротита наибольшей диагностической эффективностью обладали отечественные тест-системы.

Ключевые слова: эпидемический паротит, стандартное определение клинического случая, иммуноферментный анализ, математическая модель

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов или их законных представителей. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Пермского государственного медицинского университета им. акад. Е.А. Вагнера (протокол № 6 от 30.06.2021).

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

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

Для цитирования: Семериков В.В., Софронова Л.В., Постановова Н.О., Юминова Н.В., Долгова Е.И., Воробьева Н.Н. Стандартное определение клинического случая эпидемического паротита и диагностическая эффективность применяемых тест-систем в современный период. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2023;100(1): 65–73.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-340>

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-340>

Standard definition of a clinical case of mumps and diagnostic effectiveness of the test systems used in the modern period

Vadislav V. Semerikov^{1✉}, Lyudmila V. Safronova¹, Nina O. Postanogova¹,
Nadezhda V. Yuminova², Ekaterina I. Dolgova², Natalia N. Vorobyeva¹

¹Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia;

²Research Institute of Vaccines and Sera named after I.I. Mechnikov, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Registration of regular epidemic outbreaks of mumps infection among young people, difficulties in the clinical diagnosis of the disease, the presence of specific clinical manifestations in adults with a severe course of infection make it necessary the improvement of the quality of diagnosis of the disease.

The **aim** of the work is to develop a standard definition of a clinical case of mumps and to conduct a comparative assessment of the effectiveness of the diagnostic test systems used for mumps diagnostics based on the determination of their sensitivity and specificity.

Materials and methods. To develop a standard definition of a clinical case of mumps based on ten combined clinical and laboratory parameters, a mathematical model was built using the logistic regression method. The study included 84 patients with mumps infection (main group) and 66 patients with non-epidemic sialoadenitis (comparison group). For a comparative evaluation of the diagnostic systems VectoParotitis-IgM, VectoParotitis-IgG, ELISA-Mumps-IgM, ELISA-Mumps-IgG, Anti-Mumps Virus ELISA-IgM, and Anti-Mumps Virus ELISA-IgG, a blood serum samples from patients ($n = 41$) with a diagnosis "mumps?" were tested in dynamics to assess their sensitivity, specificity, and diagnostic effectiveness.

Results. The clinical symptom "dry mouth" increased the chance of diagnosing mumps by 13.7 times, the presence of bilateral lesions of the salivary glands — by 6.5 times, the increase in the level of diastase in the urine — by 3.2 times. The coefficient of determination R^2 was 61.1; the sensitivity was 93% and the specificity — 67%; $p < 0.001$. Diagnostic effectiveness of "Anti-Mumps Virus ELISA-IgG" test system was 84.4%, ELISA-Mumps-IgG — 87.2%, and "VectoParotitis-IgG" — 88.5%.

Conclusions. Based on the combination of following clinical symptoms observed simultaneously in patient, of the general weakness, dry mouth, bilateral lesions of the salivary glands, an increase in the level of diastase in the urine, it is possible to establish a clinical diagnosis of mumps with a probability of 81%. The highest diagnostic effectiveness of domestically manufactured test systems for quantitation of IgG antibodies to mumps virus in sick people has been demonstrated.

Keywords: *mumps, standard definition of a clinical case, enzyme immunoassay, mathematical model*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner (protocol No. 6, June 6, 2021).

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

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

For citation: Semerikov V.V., Safronova L.V., Postanogova N.O., Yuminova N.V., Dolgova E.I., Vorobyeva N.N. Standard definition of a clinical case of mumps and diagnostic effectiveness of the test systems used in the modern period. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2023;100(1): 65–73. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-340>

Введение

Несмотря на многолетнюю практику вакцинопрофилактики эпидемического паротита (ЭП) в мире и нашей стране, по-прежнему имеет место повсеместное и неравномерное его распространение на различных территориях. В ряде зарубежных стран в настоящее время зарегистрированы эпидемические вспышки паротитной инфекции с большим числом пострадавших [1–12]. В 2015–2020 гг. крупные вспышки имели место в США (в 2016–2017 гг. официально зарегистрировано 150 вспышек с 9200 случаями заболевания), Ир-

ландии (в 2018–2020 гг. — вспышка с общим числом заболевших 3700), Канаде (в 2016–2018 гг. — 24 вспышки, 881 случай заболевания), Австралии (2015–2016 гг. — вспышка среди аборигенов, 893 случая)¹.

¹ Национальный план мероприятий по реализации программы «Элиминация кори и краснухи, достижение sporadической заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации» (2021–2025 гг.), утверждённым Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Министром здравоохранения Российской Федерации.

В России заболеваемость ЭП в последние годы за счёт высокого охвата вакцинацией детей (не ниже 95%) характеризуется устойчивым спорадическим уровнем — показатель заболеваемости колеблется от 0,13 до 3,03 на 100 тыс. населения. На фоне спорадического уровня заболеваемости, как и за рубежом, регистрируются эпидемические вспышки. При этом территорией риска по заболеваемости является Северо-Кавказский федеральный округ, в котором в 2021 г. показатель заболеваемости составил 2,24 на 100 тыс. населения. В Республике Дагестан зарегистрирована вспышечная заболеваемость среди лиц молодого возраста с числом пострадавших 212 человек — показатель составил 6,79 на 100 тыс. населения. В Москве также имела место эпидемическая вспышка среди лиц молодого возраста с числом пострадавших 23 человека^{2,3}.

Регистрация периодических эпидемических вспышек ЭП среди лиц молодого возраста на фоне многолетней практики вакцинопрофилактики, затруднения в клинической диагностике заболевания в связи с выявлением атипичных и стёртых форм, а также наличие особенностей в клинических проявлениях у взрослых с преобладанием тяжёлого течения инфекции обуславливают необходимость улучшения качества диагностики ЭП [13–15].

В существующих клинических рекомендациях (протоколе лечения) оказания медицинской помощи детям, больным ЭП, утверждённых 09.10.2015 на заседании профильной комиссии ФГБУ НИИДИ ФМБА России, и требованиях действующих санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» отсутствует стандартное клиническое определение случая ЭП.

Цель исследования — разработать стандартное определение клинического случая ЭП и провести сравнительную оценку эффективности применяемых диагностических тест-систем с определением их чувствительности и специфичности.

Материалы и методы

Материалом для анализа клинико-лабораторных показателей в аналитическом эпидемиологическом исследовании «случай–контроль» послужили «Медицинские карты стационарного больного» (форма № 003/у) 150 пациентов, госпитализированных в ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая инфекционная больница» в 2014–2019 гг. В исследование включены 84 пациента с подтверждённым

диагнозом (МКБ-10) «B26. Эпидемический паротит» — основная группа и 66 человек с диагнозом «K11. Неэпидемический сиалоаденит» (НСА) — группа сравнения. Сформированные группы были сопоставимы по возрасту (4–52 года), заболевшие имели среднюю степень тяжести инфекции и поступили в инфекционный стационар своевременно — в первые 4 дня развития заболевания с наличием одинаковых клинических осложнений.

Среди выявленных клинико-лабораторных показателей определён перечень признаков, статистически достоверно чаще отмечавшихся у пациентов с ЭП в сравнении с больными НСА: общая слабость, повышение температуры до фебрильных цифр, припухлость околоушных слюнных желёз с обеих сторон, боль в околоушной области, сухость во рту, орхит, повышение уровня амилазы в крови, лейкопения, лимфоцитоз, повышение уровня диастазы в моче. Перечисленные клинико-лабораторные признаки были закодированы бинарно: наличие либо отсутствие патологического клинического симптома или лабораторного показателя (для каждого пациента относительно его возрастной физиологической нормы). При этом проводили расчёт чувствительности и специфичности для каждого клинического признака. Чувствительность показателей варьировала от 19 до 100%, специфичность — от 15 до 100%. Сочетание приоритетных клинико-лабораторных показателей, имеющих наибольшую связь с диагностической вероятностью наличия у пациента ЭП, использовали при расчёте вероятности наличия ЭП с помощью уравнения логистической регрессии, описываемого формулой:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100, \quad (1)$$

где p — вероятность у пациента ЭП, а z рассчитывали по формуле:

$$z = -5,65 + 4,7a + 1,8b + 2,6c + 1,18d, \quad (2)$$

где: a — наличие у пациента слабости (1 — есть, 0 — нет);

b — наличие у пациента двустороннего поражения околоушных слюнных желёз в виде припухлости (1 — есть, 0 — нет);

c — наличие у пациента сухости слизистой полости рта (1 — есть, 0 — нет);

d — наличие у пациента повышения уровня диастазы мочи относительно физиологической нормы (1 — есть, 0 — нет).

Для каждого пациента с подозрением на ЭП осуществляли сбор анамнестических данных для выявления астенического синдрома, объективный осмотр и пальпацию околоушной области как наиболее часто вовлекающейся в инфекционный процесс с целью обнаружения признаков двусторонне-

² Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году».

³ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году».

го воспаления околоушных слюнных желёз, осмотр полости рта для выявления сухости слизистых оболочек и исследование уровня диастазы в моче кинетическим колориметрическим методом. Каждому из определяемых показателей присваивали балл, указывающий на наличие симптома (1 балл) или его отсутствие (0 баллов). Затем производили расчёт вероятности ЭП с помощью уравнения логистической регрессии. При значении $p \geq 50\%$ у пациента диагностировали ЭП, при $p < 50\%$ этот диагноз исключали.

Окончательный диагноз ЭП устанавливали на основании клинических данных и лабораторного подтверждения диагноза⁴. Для верификации предварительного диагноза ЭП применяли иммунологический метод. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли специфические иммуноглобулины класса М (IgM) к вирусу ЭП или четырёхкратное и более увеличение уровня специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к вирусу ЭП. Лабораторные исследования 82 сывороток крови заболевших лиц и 66 здоровых проведены в лаборатории детских вирусных инфекций НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

Для сравнительной оценки чувствительности и специфичности диагностических систем в исследование была взята 41 парная сыворотка от пациентов, прошедших проверку точности клинического диагноза по разработанной модели стандартного определения клинического случая ЭП, взятая при поступлении заболевшего в стационар и через 10–11 дней в динамике болезни, включая сыворотки крови 12 заболевших из эпидемического очага. Группу сравнения составили сыворотки крови детей в возрасте 2 лет, ранее не привитых и не болевших ЭП ($n = 33$). Сыворотки крови заболевших были заморожены, промаркированы и исследовались одномоментно.

Для проведения ИФА использовали отечественные и зарубежные тест-системы «ВектоПаротит-IgM», «ВектоПаротит-IgG» (АО «Вектор-Бест»), «ИФА-Паротит-IgM», «ИФА-Паротит-IgG» (ЗАО «ЭКОлаб»), «Anti-Mumps Virus ELISA-IgM», «Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» («Euroimmun AG»), а также следующие компоненты: планшеты для ИФА с лунками, покрытыми антигенами вируса паротита (иммуносорбент), ферментный конъюгат (антитела к иммуноглобулину человека, меченные пероксидазой), положительный контрольный образец (на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащий иммуноглобулины к вирусу паротита), отрицательный контрольный образец (на

основе инактивированной сыворотки крови человека, не содержащий иммуноглобулины к вирусу паротита), раствор хромогена, раствор для разведения образцов, стоп-реагент, калибратор для полуколичественных и количественных систем, анализируемые сыворотки крови. Учёт и измерение результатов проводили на спектрофотометре при двух длинах волн — 450 и 620–655 нм. При качественном исследовании с помощью диагностических систем «ИФА-Паротит-IgM», «Векто-Паротит-IgM», «ВектоПаротит-IgG» измеряли оптическую плотность (ОП) растворов сывороток крови исследуемых лиц в лунках. На основании полученных данных вычисляли критическое значение ОП, которое сравнивали с ОП образца и делали заключение о наличии в сыворотке крови специфических антител к вирусу ЭП.

При полуколичественном учёте результатов (определение титра IgG в исследуемых сыворотках) в системе «ИФА-Паротит-IgG» строилась калибровочная кривая, на которой значениям ОП образца соответствовал определённый титр специфических антител к вирусу ЭП. Результаты системы «Anti-Mumps Virus ELISA-IgM» рассчитывали отношением (Ratio) ОП образца к ОП калибратора. При Ratio менее 0,8 результат отмечался как отрицательный, более 1,1 — положительный, промежуточное значение — сомнительный результат. При количественном учёте результатов в системе «Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» использовали 3 калибровочные сыворотки с Ig человека крови против ЭП (200, 20 и 2 отн. ед./мл), строили калибровочную кривую, на которой значениям ОП образца соответствовал уровень специфических антител к вирусу ЭП: отрицательный результат, если уровень антител составил < 16 отн. ед./мл, сомнительный — ОП от 16 до < 22 отн. ед./мл, положительный — ОП ≥ 22 отн. ед./мл. Конечное разведение образцов сыворотки для каждой тест-системы составило 1 : 100.

Кроме того, исследовали диагностическую чувствительность — долю истинно положительных результатов лабораторного теста в группе больных; диагностическую специфичность — долю истинно отрицательных результатов лабораторного теста в группе здоровых лиц; диагностическую эффективность — долю (в %) истинно отрицательных и положительных результатов лабораторного теста среди всех результатов теста.

Статистический анализ выполнен с применением программного пакета «Statistics v. 26» («IBM SPSS»). Сравнение частоты клинико-лабораторных показателей проводили с использованием таблиц сопряжённости по критерию χ^2 . Достоверными считали данные при $p < 0,05$.

Результаты

Наиболее характерные клинические проявления ЭП и НСА представлены на рис. 1. При ЭП до-

⁴ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"».

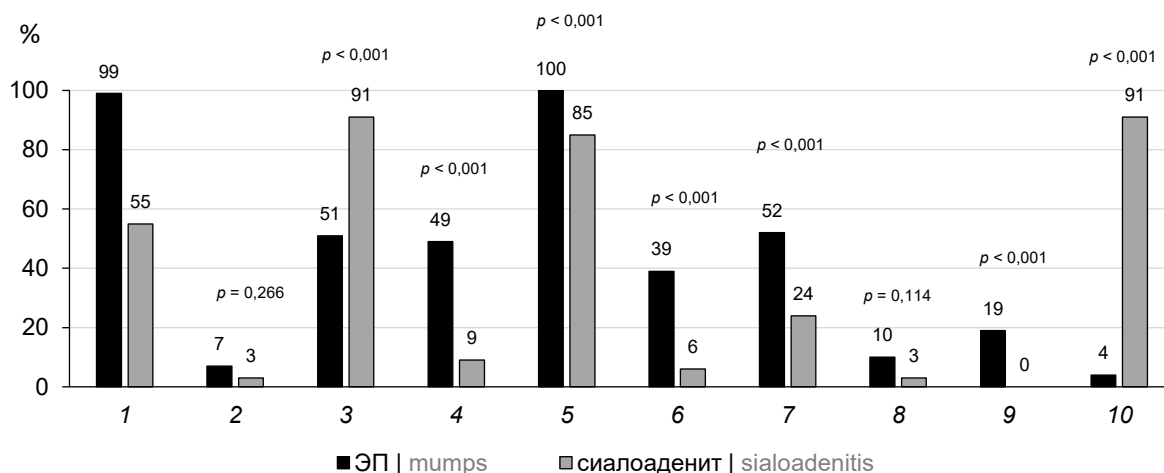


Рис. 1. Частота встречаемости основных клинических симптомов среди заболевших.

1 — слабость; 2 — головная боль; 3 — припухлость одной слюнной железы; 4 — припухлость обеих слюнных желез; 5 — боль в околоушной области; 6 — сухость во рту; 7 — фебрильная температура; 8 — боли в животе; 9 — орхит; 10 — катаральные явления верхних дыхательных путей.

Fig. 1. Frequency of occurrence of the main clinical symptoms among the patients (%)

1 — weakness; 2 — headache; 3 — swelling of one salivary gland; 4 — swelling of both salivary glands; 5 — pain in the parotid region; 6 — dry mouth; 7 — febrile temperature; 8 — abdominal pain; 9 — orchitis; 10 — catarrhal upper respiratory tract phenomena.

стверно чаще в сравнении с НСА имели место ярко выраженные клинические симптомы: слабость ($\chi^2 = 44,2$; $p < 0,001$), поражение околоушных слюнных желёз с обеих сторон ($\chi^2 = 27,1$; $p < 0,001$), боль в околоушных областях ($\chi^2 = 13,6$; $p < 0,001$), сухость во рту ($\chi^2 = 21,9$; $p < 0,001$), фебрильная температура ($\chi^2 = 12,2$; $p < 0,001$), орхит ($\chi^2 = 14,1$; $p < 0,001$).

Наиболее характерные лабораторные изменения, отмечающиеся при ЭП и НСА, представлены на **рис. 2**. Достоверно чаще при ЭП в сравнении с НСА отмечались повышение уровня амилазы в

крови ($\chi^2 = 6,9$; $p = 0,009$), лейкопения ($\chi^2 = 8,7$; $p = 0,004$), лимфоцитоз ($\chi^2 = 10,5$; $p = 0,002$), повышение уровня диастазы в моче ($\chi^2 = 13,4$; $p < 0,001$).

Следовательно, наиболее частыми клинико-лабораторными признаками, в данной модели — бинарными классификаторами, имеющими прямую достоверную связь с вероятностью установления диагноза ЭП, на основании которых построена математическая модель (1), оказались следующие: слабость, поражение околоушных слюнных желёз с обеих сторон, боль в околоушных областях, сухость

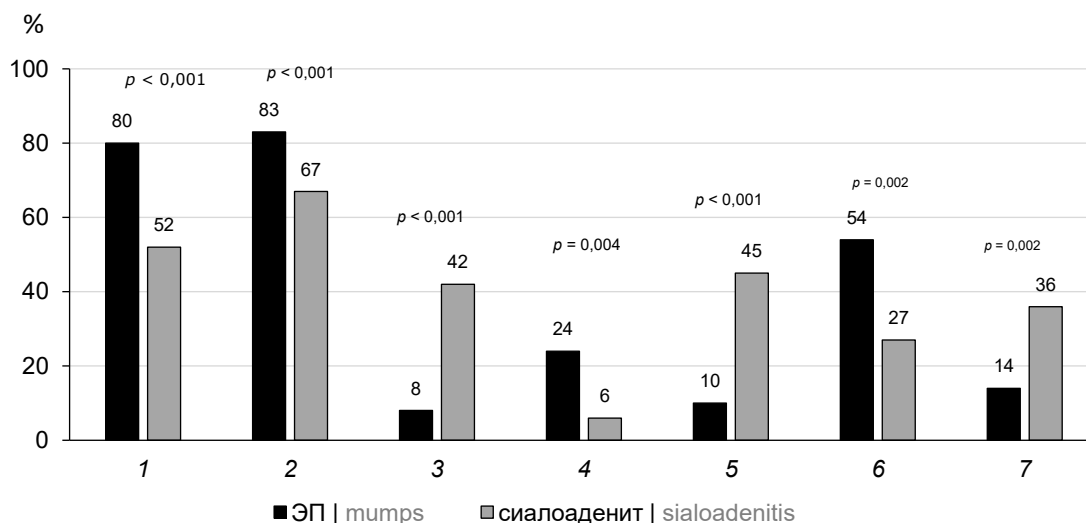


Рис. 2. Частота встречаемости основных лабораторных отклонений среди пациентов, %.

1 — повышение диастазы в моче; 2 — повышение амилазы в крови; 3 — лейкоцитоз; 4 — лейкопения; 5 — нейтрофилез; 6 — лимфоцитоз; 7 — увеличенная СОЭ.

Fig. 2. Frequency of occurrence of major laboratory abnormalities among patients, %.

1 — increased diastase in urine; 2 — increased amylase in blood; 3 — leukocytosis; 4 — leukopenia; 5 — neutrophilosis; 6 — lymphocytosis; 7 — increased ESR.

Таблица 1. Чувствительность и специфичность клинико-лабораторных показателей в обеих группах наблюдения, %
Table 1. Sensitivity and specificity of clinical and laboratory parameters in both study groups, %

Клинические признаки Clinical signs	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity
Слабость Weakness	99	45
Поражение околоушных слюнных желёз с обеих сторон Damage to the parotid salivary glands on both sides	49	91
Боль в околоушных областях Pain in the parotid areas	100	15
Сухость во рту Dry mouth	39	94
Фебрильная температура Febrile temperature	52	76
Явления орхита Orchitis	19	100
Повышение уровня амилазы в крови Increased amylase levels in the blood	83	33
Лейкопения Leukopenia	24	94
Лимфоцитоз Lymphocytosis	54	73
Повышение уровня диастазы в моче Increased diastase levels in the urine	80	49

во рту, фебрильная температура, явления орхита, повышение уровня амилазы в крови, лейкопения, лимфоцитоз, повышение уровня диастазы в моче. Чувствительность признаков варьировала от 19 до 99%, специфичность — от 15 до 100% (табл. 1).

Исходя из значений регрессионных коэффициентов полученной математической модели (1), такие клинико-лабораторные симптомы, как наличие у пациента общей слабости, сухости во рту, двустороннего поражения околоушных слюнных желёз и повышение уровня диастазы в моче, имели прямую связь с диагностической вероятностью наличия ЭП.

Сухость во рту как клинический симптом увеличивает шансы установления диагноза ЭП в 13,7 раза, двустороннее поражение слюнных желёз — в 6,5 раза, повышение уровня диастазы (500–4300 ЕД/л) — в 3,2 раза. Полученная диагностическая модель характеризовалась коэффициентом детерминации $R^2 = 61,1$; чувствительностью 93% и специфичностью 67% при $p < 0,001$. Выявленный показатель диагностической эффективности 81% позволяет с наибольшей вероятностью верифицировать диагноз ЭП.

В ходе проведённых сравнительных лабораторных исследований сывороток крови пациентов, заболевших ЭП, получены данные чувствительности, специфичности и диагностической эффективности (табл. 2, табл. 3).

Проведённая сравнительная оценка используемых диагностических систем позволила установить наибольшую диагностическую эффективность системы «Anti-Mumps Virus ELISA-IgM» для определения уровня специфических антител-IgM к вирусу ЭП (74,3%) по сравнению с «ВектоПаротит-IgM» (65,8%) и «ИФА-Паротит-IgM» (59,4%) ($\chi^2 = 2,413$ при $p = 0,121$; $\chi^2 = 6,136$ при $p = 0,014$ соответственно; табл. 2). При определении специфических IgG-антител к вирусу ЭП наибольшую диагностическую эффективность продемонстрировали системы «ВектоПаротит-IgG» и «ИФА-Паротит-IgG» по сравнению с «Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» ($p > 0,05$; табл. 3).

Обсуждение

В клинической практике ЭП регистрируется преимущественно в виде железистых клинических

Таблица 2. Результаты сравнительной диагностической эффективности систем в ходе ИФА при выявлении специфических IgM к вирусу ЭП в сыворотках крови пациентов

Table 2. Results on the comparison of the diagnostic effectiveness of ELISA test systems for detection of IgM antibodies to mumps virus in patients' blood sera

Исследуемые сыворотки крови Tested blood serum samples	«ВектоПаротит-IgM» («Вектор-Бест») «Vectoparotite-IgM» («Vector-Best»)		«ИФА-Паротит-IgM» («ЭКОлаб») «ELISA-Mumps-IgM» («EcoLab»)		«Anti-Mumps Virus ELISA-IgM» («Euroimmun»)	
	«+»	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»
Больные Patients ($n = 41$)	15	26	11	30	22	19
Здоровые Healthy participants ($n = 33$)	0	33	0	33	0	33
Диагностическая чувствительность, % Diagnostic sensitivity, %	36,6		26,8		53,7	
Диагностическая специфичность, % Diagnostic specificity, %	100,0		100,0		100,0	
Диагностическая эффективность, % Diagnostic effectiveness, %	65,8		59,4		74,3	

Таблица 3. Данные сравнительной диагностической эффективности систем в ходе ИФА при выявлении специфических IgG к вирусу ЭП в сыворотке крови пациентов, исследованных в динамике заболевания

Table 3. Results on the comparison of the diagnostic effectiveness of ELISA test systems for detection of IgG antibodies to mumps virus in patients' blood sera tested in dynamics

Исследуемые сыворотки крови Tested blood serum samples	«ВектоПаротит-IgG» («Вектор-Бест») «VectoParotite-IgG» («Vector-Best»)		«ВектоПаротит-IgG» («Вектор-Бест») «VectoParotite-IgG» («Vector-Best»)		«Anti-Mumps Virus ELISA-IgG» («Euroimmun»)	
	«+»	«-»	«+»	«-»	«+»	«-»
Больные Patients (n = 82)	65	17	63	19	59	23
Здоровые Healthy participants (n = 66)	0	66	0	66	0	66
Диагностическая чувствительность, % Diagnostic sensitivity, %	79,3		76,8		71,9	
Диагностическая специфичность, % Diagnostic specificity, %	100,0		100,0		100,0	
Диагностическая эффективность, % Diagnostic effectiveness, %	88,5		87,2		84,4	

форм. Нередко среди заболевших лиц молодого возраста встречаются атипичные формы инфекции с увеличением одной околоушной слюнной железы либо со слабовыраженными симптомами болезни и инapparантные, диагностируемые в эпидемических очагах инфекции [16–18]. Регистрация периодических эпидемических вспышек паротитной инфекции среди лиц молодого возраста на фоне многолетней практики вакцинопрофилактики, затруднения в клинической диагностике заболевания в связи с выявлением атипичных и стёртых форм, а также наличие особенностей клинических проявлений у взрослых с преобладанием тяжёлого течения инфекции определили необходимость разработки диагностического стандарта ЭП, который отсутствует в клинических рекомендациях (протоколе лечения) оказания медицинской помощи детям, больным ЭП, и требованиях действующих санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Разработанное стандартное определение клинического случая ЭП (патент на изобретение № 2785486 «Способ диагностики эпидемического паротита») позволит повысить точность и качество диагностики ЭП за короткий промежуток времени, что отвечает задачам национальной программы «Элиминация кори и краснухи, достижение спорадической заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации» (2021–2025 гг.)».

Как демонстрируют настоящее и ранее проведённые исследования, на текущий момент в субъектах Российской Федерации в клинической практике используются отечественные диагностические системы «Вектор-Бест», «ЭКОлаб», БТК «Биосервис», чувствительность и специфичность которых приведена в инструкциях по их применению. Вместе с тем сравнительную оценку диагностической специфичности, чувствительности и эффективности тест-систем, зарегистрированных и применяемых на территории России для лабораторного под-

тверждения предварительного диагноза ЭП у заболевших, в имеющейся отечественной и зарубежной литературе мы не встретили.

Заключение

Детальный анализ клинических проявлений ЭП позволил отметить, что наличие таких клинических симптомов, как сухость во рту, увеличивает шансы установления диагноза ЭП в 13,7 раза, двустороннее поражение слюнных желёз — в 6,5 раза, повышение уровня диастазы в моче (в диапазоне 500–4300 ЕД/л) — в 3,2 раза. Полученная диагностическая математическая модель характеризовалась коэффициентом детерминации $R^2 = 61,1$; чувствительностью 93% и специфичностью 67% при $p < 0,001$. Выявленный высокий показатель диагностической эффективности (81%) позволяет с наибольшей вероятностью устанавливать диагноз ЭП с помощью стандартного определения клинического случая. При проведении дифференциальной диагностики ЭП в условиях спорадического уровня заболеваемости с острым НСА при одновременном сочетании у пациента клинических симптомов общей слабости, сухости во рту, двустороннего поражения слюнных желёз, повышения уровня диастазы в моче позволило своевременно верифицировать диагноз ЭП.

Выявленная наибольшая диагностическая эффективность отечественных тест-систем в ходе динамического определения уровня специфических IgG-антител к вирусу ЭП, прошедших проверку точности с помощью разработанного стандартного определения клинического случая ЭП, позволяет рекомендовать их широкое применение для лабораторного подтверждения случаев ЭП и исключения предполагаемого пропущенного случая инфекции, установления потенциального источника возбудителя инфекции и вероятного места заражения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Горелов А.В., ред. *Клиническое руководство по инфекционным болезням*. М.: Медконгресс; 2020.

2. Bodewes R., van Rooijen K., Cremer J., van Binnendijk R. Optimizing molecular surveillance of mumps genotype G viruses. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 69: 230–4. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.02.005>
3. Zengel J., Phan S.I., Pickar A., Xu P., He B. Immunogenicity of mumps virus vaccine candidates matching circulating genotypes in the United States and China. *Vaccine.* 2017; 35(32): 3988–994. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.084>
4. Liu W., Deng L., Lin X., Wang X., Ma Y., Deng Q., et al. Importation of mumps virus genotype K to China from Vietnam. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(4): 774–8. <https://doi.org/10.3201/eid2404.170591>
5. Li D., Chen Z.F., Yang X.H., Pan W.Y., Wang Q., Zhang S.H., et al. Epidemiological and pathogenic characteristics of mumps in Fujian province, 2005–2017. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2018; 39(10): 1356–61. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-450.2018.10.013> (in Chinese)
6. Cui A., Zhu Z., Mao N., Si Y., Ma Y., Hu Y., et al. Assessment of one-dose mumps-containing vaccine effectiveness on wild-type genotype F mumps viruses circulating in mainland China. *Vaccine.* 2018; 36(38): 5725–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.08.028>
7. Vaidya S.R., Tilavat S.M., Hamde V.S., Bhattad D.R. Outbreak of mumps virus genotype G infection in tribal individuals during 2016–17 in India. *Microbiol. Immunol.* 2018; 62(8): 517–23. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12606>
8. Willocks L.J., Guerdain D., Austin H.I., Morrison K.E., Cameron R.L., Templeton K.E., et al. An outbreak of mumps with genetic strain variation in a highly vaccinated student population in Scotland. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145(15): 3219–25. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002102>
9. Park S.H. Resurgence of mumps in Korea. *Infect. Chemother.* 2015; 47(1): 1–11. <https://doi.org/10.3947/ic.2015.47.1.1>
10. Mailliet M., Bouvat E., Robert N., Baccard-Longère M., Morel-Baccard C., Morand P., et al. Mumps outbreak and laboratory diagnosis. *J. Clin. Virol.* 2015; 62: 14–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.11.004>
11. Liang Y., Che Y., Yang B., Zhan F., Li H., Guan X., et al. Immunogenicity and safety of an F-genotype attenuated mumps vaccine in healthy 8- to 24-month-old children. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(1): 50–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy469>
12. L'Huillier A.G., Eshaghi A., Racey C.S., Ogbulafor K., Lombos E., Higgins R.R., et al. Laboratory testing and phylogenetic analysis during a mumps outbreak in Ontario, Canada. *Virol. J.* 2018; 15(1): 98. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0996-5>
13. Westphal D.W., Eastwood A., Levy A., Davies J., Huppertz C., Gilles M., et al. A protracted mumps outbreak in Western Australia despite high vaccine coverage: a population-based surveillance study. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(2): 177–84. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30498-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30498-5)
14. Fields V.S., Safi H., Waters C., Dillaha J., Capelle L., Riklon S., et al. Mumps in a highly vaccinated Marshallese community in Arkansas, USA: an outbreak report. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(2): 185–92. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30607-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30607-8)
15. Постаногова Н.О., Семериков В.В., Софронова Л.В., Вольдшмидт Н.Б. Случаи развития эпидемического паротита при вспышечной заболеваемости: клинико-эпидемиологическое наблюдение. *Пермский медицинский журнал.* 2020; 37(2): 24–32. <https://doi.org/10.17816/pmj37224-32>
16. Круглов И.В., Юминова Н.В., ред. Актуальные вопросы современной вирусологии: коллективная монография. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2021.
17. Гришунина Ю.Б., Контаров Н.А., Архарова Г.В., Юминова Н.В. Статистический анализ параметров модели эпидемической ситуации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2015; 14(5): 13–20.
18. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным эпидемическим паротитом. СПб.; 2015.

REFERENCES

1. Gorelov A.V., ed. *Clinical Guidelines for Infectious Diseases [Klinicheskoe rukovodstvo po infektsionnym boleznyam]*. Moscow: Medkongress; 2020. (in Russian)
2. Bodewes R., van Rooijen K., Cremer J., van Binnendijk R. Optimizing molecular surveillance of mumps genotype G viruses. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 69: 230–4. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.02.005>
3. Zengel J., Phan S.I., Pickar A., Xu P., He B. Immunogenicity of mumps virus vaccine candidates matching circulating genotypes in the United States and China. *Vaccine.* 2017; 35(32): 3988–994. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.084>
4. Liu W., Deng L., Lin X., Wang X., Ma Y., Deng Q., et al. Importation of mumps virus genotype K to China from Vietnam. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(4): 774–8. <https://doi.org/10.3201/eid2404.170591>
5. Li D., Chen Z.F., Yang X.H., Pan W.Y., Wang Q., Zhang S.H., et al. Epidemiological and pathogenic characteristics of mumps in Fujian province, 2005–2017. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2018; 39(10): 1356–61. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-450.2018.10.013> (in Chinese)
6. Cui A., Zhu Z., Mao N., Si Y., Ma Y., Hu Y., et al. Assessment of one-dose mumps-containing vaccine effectiveness on wild-type genotype F mumps viruses circulating in mainland China. *Vaccine.* 2018; 36(38): 5725–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.08.028>
7. Vaidya S.R., Tilavat S.M., Hamde V.S., Bhattad D.R. Outbreak of mumps virus genotype G infection in tribal individuals during 2016–17 in India. *Microbiol. Immunol.* 2018; 62(8): 517–23. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12606>
8. Willocks L.J., Guerdain D., Austin H.I., Morrison K.E., Cameron R.L., Templeton K.E., et al. An outbreak of mumps with genetic strain variation in a highly vaccinated student population in Scotland. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145(15): 3219–25. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002102>
9. Park S.H. Resurgence of mumps in Korea. *Infect. Chemother.* 2015; 47(1): 1–11. <https://doi.org/10.3947/ic.2015.47.1.1>
10. Mailliet M., Bouvat E., Robert N., Baccard-Longère M., Morel-Baccard C., Morand P., et al. Mumps outbreak and laboratory diagnosis. *J. Clin. Virol.* 2015; 62: 14–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.11.004>
11. Liang Y., Che Y., Yang B., Zhan F., Li H., Guan X., et al. Immunogenicity and safety of an F-genotype attenuated mumps vaccine in healthy 8- to 24-month-old children. *J. Infect. Dis.* 2019; 219(1): 50–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy469>
12. L'Huillier A.G., Eshaghi A., Racey C.S., Ogbulafor K., Lombos E., Higgins R.R., et al. Laboratory testing and phylogenetic analysis during a mumps outbreak in Ontario, Canada. *Virol. J.* 2018; 15(1): 98. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0996-5>
13. Westphal D.W., Eastwood A., Levy A., Davies J., Huppertz C., Gilles M., et al. A protracted mumps outbreak in Western Australia despite high vaccine coverage: a population-based surveillance study. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(2): 177–84. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30498-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30498-5)
14. Fields V.S., Safi H., Waters C., Dillaha J., Capelle L., Riklon S., et al. Mumps in a highly vaccinated Marshallese community in Arkansas, USA: an outbreak report. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19(2): 185–92. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30607-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30607-8)
15. Postanogova N.O., Semerikov V.V., Sofronova L.V., Vol'dshmidt N.B. Cases of mumps development in outbreak inci-

- dence: clinical and epidemiological observation. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 37(2): 24–32.
<https://doi.org/10.17816/pmj37224-32> (in Russian)
16. Kruglov I.V., Yuminova N.V., eds. *Topical Issues of Modern Virology: A Collective Monograph [Aktual'nye voprosy sovremennoy virusologii: kollektivnaya monografiya]*. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2021. (in Russian)

Информация об авторах

Семериков Вадислав Васильевич[✉] — д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, metodkkib1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5346-8104>

Софронова Людмила Васильевна — д.м.н., профессор кафедры педиатрии с курсом поликлинической педиатрии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5524-8191>

Постаногова Нина Олеговна — ассистент кафедры педиатрии с курсом поликлинической педиатрии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0559-1914>

Юминова Надежда Васильевна — д.б.н., профессор, зам. рук. отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Долгова Екатерина Игоревна — м.н.с. лаб. детских вирусных инфекций НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Воробьева Наталья Николаевна — д.м.н., профессор, зав. каф. инфекционных болезней ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5384-5910>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 05.12.2022;
принята к публикации 15.02.2023;
опубликована 28.02.2023

17. Grishunina Yu.B., Kontarov N.A., Arkharova G.V., Yuminova N.V. Statistical analysis of the model parameters of the epidemic situation. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2015; 14(5): 13–20. (in Russian)
18. Clinical recommendations (treatment protocol) for providing medical care to children with mumps. St. Petersburg; 2015. (in Russian)

Information about the authors

Vadislav V. Semerikov[✉] — D. Sci. (Med.), Professor, Department of epidemiology and hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia, metodkkib1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5346-8104>

Lyudmila V. Sofronova — D. Sci. (Med.), Professor, Department of pediatrics with a course of outpatient pediatrics, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5524-8191>

Nina O. Postanogova — assistant, Department of pediatrics with a course of outpatient pediatrics, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0559-1914>

Nadezhda V. Yuminova — D. Sci. (Biol.), Professor, Deputy Head, Department of virology named after O.G. Anjaparidze, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7723-4038>

Ekaterina I. Dolgova — junior researcher, Laboratory of children's viral infections, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8985-7569>

Natalia N. Vorobyova — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of infectious diseases, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5384-5910>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 05.12.2022;
accepted for publication 15.02.2023;
published 28.02.2023

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-352>

Условно-патогенная микробиота грудного молока и антимикробная активность сыворотки на разных сроках лактации

Арзуманян В.Г.¹, Колыганова Т.И.^{1,2✉}, Вартанова Н.О.¹, Ожован И.М.¹, Кравцова Е.О.², Зверев В.В.^{1,2}

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

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

Аннотация

Цель: оценка взаимосвязи между количеством условно-патогенных микроорганизмов в грудном молоке и антимикробной активностью (АМА) сыворотки на разных сроках лактации.

Материалы и методы. Из 100 образцов грудного молока от здоровых кормящих матерей производили посевы на плотные селективные среды, затем чистые культуры микроорганизмов идентифицировали методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. АМА сыворотки оценивали методом спектрофотометрии по отношению к модельной культуре *Candida albicans*.

Результаты. Получено 270 изолятов, представленных 36 видами 13 родов условно-патогенных бактерий. Ни один образец из 100 не содержал условно-патогенных грибов. Преобладающими явились стафилококки (7 видов) и стрептококки (11 видов). Наиболее часто встречались стафилококки — *S. epidermidis* (70,2%), *S. aureus* (20,8%) и стрептококки — *S. mitis* (27,7%) и *S. oralis* (21,8%). Общая обсеменённость (медиана) условно-патогенными бактериями молозива составила $7-9 \times 10^3$ КОЕ/мл, переходного молока — 4×10^3 КОЕ/мл, зрелого молока — 5×10^2 КОЕ/мл. АМА сыворотки молозива составляла 87,4–89,4%, переходного молока — 88,2%, зрелого молока — 63,4–81,9%. Общая обсеменённость имела высокую обратную корреляцию с периодом лактации ($r = -0,806$) и высокую прямую корреляцию с АМА сыворотки ($r = 0,699$). При этом значимое снижение обсеменённости отмечено после 1 мес от начала лактации, тогда как значимое снижение АМА — после 8 мес.

Заключение. Установлено, что снижение общей обсеменённости грудного молока условно-патогенными бактериями по мере увеличения срока лактации первично по отношению к снижению АМА сыворотки. Таким образом, изменение факторов антимикробной защиты сыворотки грудного молока происходит в ответ на изменение объёма условно-патогенной микробиоты.

Ключевые слова: микробиом, грудное молоко, периоды лактации, антимикробная активность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (протокол № 7-4326/2021 от 03.09.2021).

Благодарность. Выражаем благодарность Национальному медицинскому исследовательскому центру акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, в частности директору Института неонатологии и педиатрии профессору Виктору Васильевичу Зубкову, за предоставленный материал и сотрудничество при проведении исследования.

Источник финансирования. Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования «НИИВС им. И.И. Мечникова» при финансовой поддержке проекта Российской Федерации в лице Минобрнауки России, Соглашение № 075–15-2021-676 от 28.07.2021.

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

Для цитирования: Арзуманян В.Г., Колыганова Т.И., Вартанова Н.О., Ожован И.М., Кравцова Е.О., Зверев В.В. Условно-патогенная микробиота грудного молока и антимикробная активность сыворотки на разных сроках лактации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):74–83.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-352>

Opportunistic microbiota of breast milk and antimicrobial activity of milk whey at different periods of lactation

Vera G. Arzumanian¹, Tatyana I. Kolyganova^{1,2✉}, Nune O. Vartanova¹, Irina M. Ozhovan¹, Elena O. Kravtsova², Vitaly V. Zverev^{1,2}

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

²First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Object of study. The evaluation of the interaction between breast milk opportunistic microorganisms abundance and the milk whey antimicrobial activity at different periods of lactation.

Materials and methods. 100 samples of breast milk from healthy breastfeeding mothers were inoculated on solid selective media, and then pure cultures of microorganisms were identified by MALDI-TOF mass spectrometry. The antimicrobial activity of the whey against a model culture of *Candida albicans* was evaluated by spectrophotometry.

Results. 270 isolates represented by 36 species of 13 genera of opportunistic bacteria were obtained. None of the 100 samples contained opportunistic fungi. Staphylococci (7 species) and streptococci (11 species) were predominant. The most common were staphylococci — *S. epidermidis* (70.2%) and *S. aureus* (20.8%), and streptococci — *S. mitis* (27.7%) and *S. oralis* (21.8%). The total contamination (median) of opportunistic bacteria in the colostrum was $7-9 \times 10^3$ CFU/ml, transitional milk — 4×10^3 CFU/ml, mature milk — 5×10^2 CFU/ml. The antimicrobial activity of colostrum whey was 87.4–89.4%; transitional milk — 88.2%; mature milk — 63.4–81.9%. The total contamination had a high inverse correlation with the lactation period ($r = -0.806$) and a high positive correlation with the antimicrobial activity of whey ($r = 0.699$). Meanwhile, a significant decrease in contamination was noted after 1 month from the beginning of lactation, while a significant decrease in antimicrobial activity was observed after 8 months.

Conclusions. The decrease of the breast milk contamination by opportunistic bacteria during the lactation period was found to be primary compared to the decrease of the whey antimicrobial activity. Thus, changes in the whey antimicrobial protection factors occur in response to changes of the opportunistic microbiota abundance.

Keywords: *microbiome, breast milk, lactation periods, antimicrobial activity*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov (Protocol No. 7-4326/2021 of 03.09.2021).

Acknowledgement. We express our gratitude to the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov, in particular to the director of the Institute of Neonatology and Pediatrics, Professor Viktor Vasilievich Zubkov, for the material provided and cooperation during the study.

Funding source. The study was carried out on the scientific equipment of the Collective Usage Center of the Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, with the financial support of the project by the Russian Federation represented by the Ministry of Science of Russia, Agreement No. 075-11-2021-676 dated 28.07.2021.

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

For citation: Arzumanian V.G., Kolyganova T.I., Vartanova N.O., Ozhovan I.M., Kravtsova E.O., Zverev V.V. Opportunistic microbiota of breast milk and antimicrobial activity of milk whey at different periods of lactation. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):74–83.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-352>

Введение

Грудное молоко (ГМ) является не только оптимальным источником питательных веществ для младенца, но и защищает его от инфекций с помощью набора антимикробных субстанций — иммуноглобулинов и антимикробных пептидов [1]. Ранее ГМ считали стерильной жидкостью, однако оказалось, что оно содержит множество родов/видов микроорганизмов. Сегодня можно считать доказанным, что микробиом ГМ и его метаболиты обеспечивают не

только нормальное развитие кишечной микробиоты младенца, но и его иммунную защиту [2–6]. В связи с подтверждёнными преимуществами, которые даёт микробиом ГМ, его наличие стали считать физиологической нормой. Есть мнение, что кишечная микробиота ребёнка формируется из микробиоты матери, в частности, населяющей кожу, молочные протоки и, более того, кишечник [7]. Показано, что дендритные клетки регулярно нарушают интестинальный эпителий, захватывая живые бактерии и

доставляя их в мезентериальные лимфатические узлы, откуда они затем через лимфатическую систему попадают в дистальные участки тела. Обращает на себя внимание тот факт, что разнообразие бактерий, населяющих кишечник младенца, невелико: очевидно, что передача микробиоты из кишечника матери с лимфотоком касается не всех видов микроорганизмов [8].

С помощью традиционных культуральных методов и молекулярных методик, позволяющих идентифицировать бактериальную ДНК, определены следующие классы бактерий:

- *Firmicutes*: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Gemella*, *Enterococcus*, *Clostridia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*;
- *Actinobacteria*: *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*;
- *Proteobacteria*: *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Serratia*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Ralstonia*, *Bradyrhizobium*;
- *Bacteroidetes*: *Prevotella* [9].

Этот список постоянно обновляется, причём установлено также наличие вирусов и микромицетов [7]. Наиболее часто встречающимися в ГМ микроорганизмами являются стафилококки, в частности *Staphylococcus epidermidis*, и стрептококки [7, 10, 11]. Распространённость такой типичной для ГМ группы бактерий, как лактобациллы, значительно варьирует, тогда как обилие и распространённость бифидобактерий довольно низкие.

В процессе лактации состав микробиома ГМ меняется. Установлено, что общая биомасса бактерий в молозиве ниже, чем в переходном и зрелом молоке, но видовое разнообразие выше [12, 13]. Показано, что уровни типичных энтеробактерий, таких как *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus* spp., повышаются с увеличением срока лактации, что, по мнению авторов, подтверждает продолжающуюся транслокацию бактерий из гастроинтестинального тракта матери [13, 14].

Ранее нами установлено, что по мере увеличения периода лактации антимикробная активность (АМА) сыворотки ГМ значительно снижалась [15], что было обусловлено снижением уровней секреторного иммуноглобулина класса А (sIgA), лактоферрина и сывороточного альбумина [16].

Целью настоящей работы явилась оценка взаимосвязи между наличием/концентрацией условно-патогенных микроорганизмов ГМ и АМА сыворотки на разных сроках лактации.

Материалы и методы

Образцы ГМ получали от 100 здоровых кормящих матерей на разном сроке лактации (возрасте ребёнка). Перед сцеживанием ГМ сосок и ареолу обрабатывали мыльным раствором и промывали теплой водой. ГМ собирали в стерильный одноразовый контейнер и в течение 1 ч доставляли в лабораторию, где производили посевы на чашки Петри с плотными селективными средами: питательная среда № 10 ГРМ для выделения стафилококков с добавлением яичного желтка (ГНЦ ПМБ, Оболенск); агар Эндо-ГРМ для выделения энтеробактерий (ГНЦ ПМБ, Оболенск); питательная среда № 2 ГРМ, Сабуро, для выделения грибов (ГНЦ ПМБ, Оболенск); питательный ГРМ-агар (ГНЦ ПМБ, Оболенск) с добавлением 5% стерильной дефибринированной лошадиной крови (ЗАО «Эколаб»); UriSelect 4 для выделения уропатогенных бактерий («Bio-Rad»). Посевы инкубировали 1–2 сут при 37°C в аэробных и анаэробных условиях.

Далее путём пересевов получали чистые культуры микроорганизмов. Идентификацию чистых культур микроорганизмов проводили с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе «MALDI Biotyper Sirius RUO System» («Bruker»). Для этого одну изолированную колонию свежей чистой культуры микроорганизмов наносили одноразовой микробиологической петлёй на лунку мишени специальной пластины (MSP-чипа). Сразу после высыхания биомассы мишени обрабатывали 1–2 мкл 70% муравьиной кислоты для экстракции микробных белков. Далее на мишени наносили 1–2 мкл матрицы (альфа-циано-4-гидроксикоричной кислоты в водном растворе ацетонитрила и трифторуксусной кислоты) для ионизации микробных пептидов, после чего пластину помещали в прибор и проводили MS-идентификацию. Результат идентификации считали достоверным, если коэффициент соответствия с базой данных (Score) был более или равен 2,0. Для более точной дифференциации *Streptococcus pneumoniae* от *S. mitis* и *S. oralis* ставили оптохиновый тест и делали микроскопию мазков, окрашенных по Граму. Score не менее 2,0, положительный оптохиновый тест и наличие ланцетовидных диплококков давали основание считать, что изолят относится к *S. pneumoniae*.

При получении сыворотки 1,5 мл размороженного ГМ центрифугировали со скоростью 16 000 об/мин в течение 5 мин, собирали нижнюю фракцию, не содержащую жиров, и к ней добавляли аликвоту раствора лимонной кислоты для удаления казеина [1]. После инкубации при комнатной температуре в течение 5 мин смесь центрифугировали со скоростью 16 000 об/мин в течение 10 мин, а полученный супернатант (сыворотку) использовали для определения АМА.

АМА сыворотки оценивали методом спектрофотометрии по отношению к модельной культуре *Candida albicans* [17]. Для этого 300 мкл сыворотки (опыт) или 300 мкл физиологического раствора (контроль) соединяли с 50 мкл суспензии клеток *Candida albicans* № 927 (коллекция НИИВС им. И.И. Мечникова), полученной из расчёта 1 микро-

биологическая петля в 50 мкл. Суспензию инкубировали при 32°C в течение 2 ч на шейкере, центрифугировали 5 мин при 16 000 об/мин, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли по 300 мкл раствора бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере (рН 4,6). После этого пробы инкубировали при 32°C в течение 45 мин на шейкере и центрифугировали в том же режиме. Осадки микроскопировали при суммарном увеличении 1750 («ЛОМО») и фотографировали цифровой камерой «Sony», а по 50 мкл супернатантов соединяли с 2,5 мл фосфатного буфера рН 4,6 и измеряли оптическую плотность (ОП) полученных на спектрофотометре «Genesys 10S UV-Vis» при длине волны 440 нм. Активность рассчитывали как разность ОП между контрольным и опытным образцом, отнесённую к ОП контрольного образца и выраженную в процентах.

Статистический анализ проводили с помощью программы «Microsoft Excel 2019».

Результаты

В настоящем исследовании не ставилась цель определить все виды микроорганизмов, присутствующие в ГМ, а только те, которые являются условно-патогенными. Ни один образец из 100 не содержал условно-патогенных грибов.

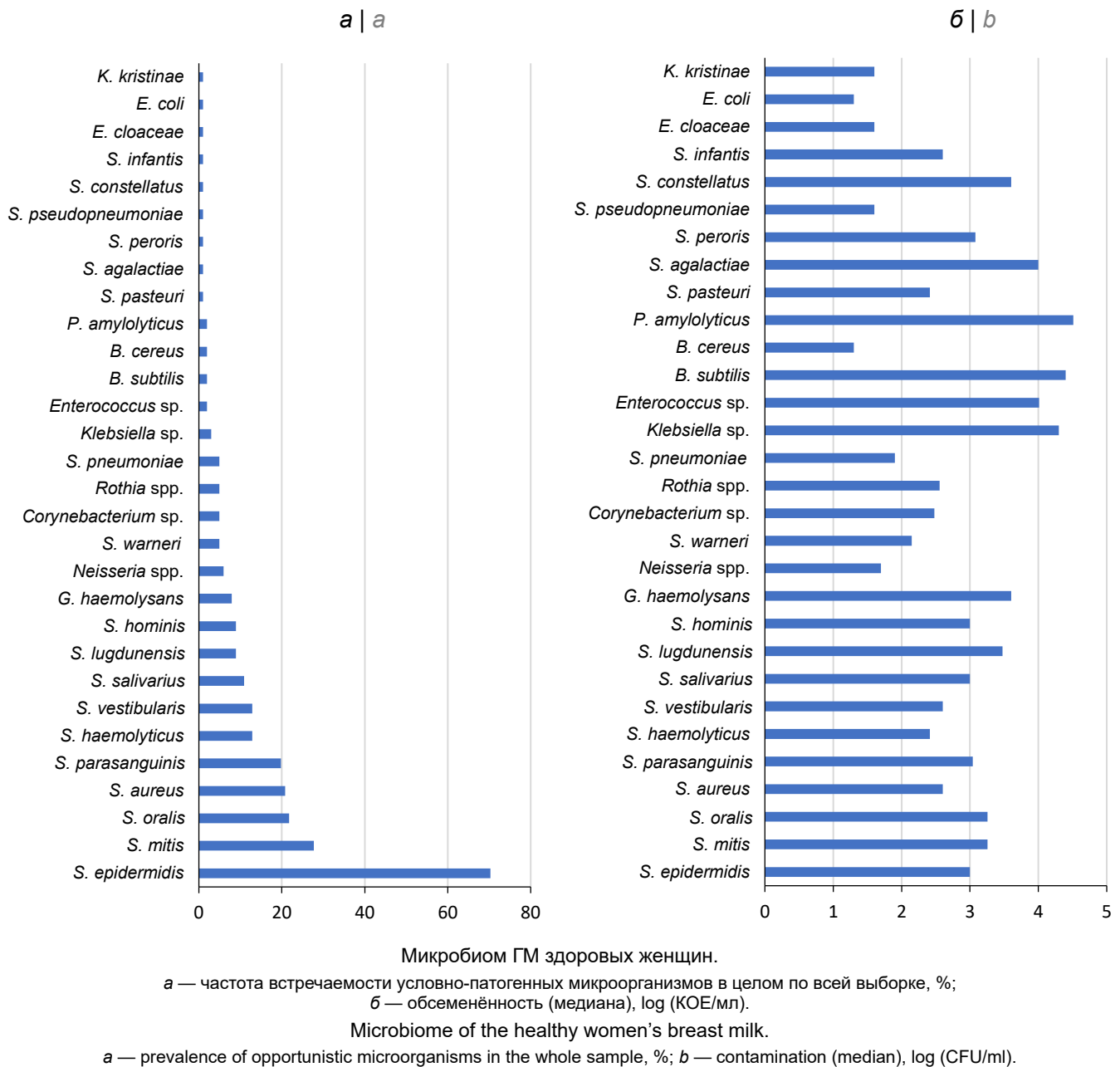
В табл. 1 указаны виды условно-патогенных бактерий, выделенных из 100 образцов ГМ: 270 изолятов представлены 36 видами 13 родов. Преобладающими являются стафилококки (7 видов) и стрептококки (11 видов). Наиболее часто (свыше 20%) встречаются стафилококки — *S. epidermidis*, *S. aureus* и стрептококки — *S. mitis* и *S. oralis* (рисунок, а). Остальные роды бактерий представлены 1–3 видами, причём некоторые из полученных изолятов, такие как *Enterococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *Rothia* sp., *Neisseria* sp. и *Gemella* sp., не удалось идентифицировать до уровня вида, даже применив такой современный метод, как MALDI-TOF масс-спектрометрия. Обращает на себя внимание тот факт, что обсеменённость ГМ стафилококками и стрептококками варьировала от 10² до 10³ КОЕ/мл, тогда как максимальная биомасса бактерий (10⁴ КОЕ/мл и выше) характерна для редко встречающихся видов, таких как *P. amylolyticus*, *B. subtilis* и др. (рисунок, б).

В табл. 2 представлены данные, касающиеся взаимосвязи между периодом лактации, АМА сыворотки и наличием микроорганизмов в ГМ. Образцы ГМ были разделены на группы в соответствии с периодом лактации: 1-я группа — 1–2-суточное молозиво; 2-я — 3-суточное молозиво; 3-я — переходное ГМ 4 сут – 1 мес; 4-я — зрелое ГМ 3–8 мес; 5-я — зрелое ГМ старше 9 мес. Для каждого периода лактации определены и рассчитаны следующие показатели: АМА сыворотки, частота встречаемости и обсеменённость наиболее значимыми вида-

Таблица 1. Видовое разнообразие изолятов, полученных из 100 образцов ГМ

Table 1. Species diversity of isolates obtained from 100 samples of breast milk

Роды Genus	Виды Species	Число изолятов Number of isolates
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. epidermidis</i>	71
	<i>S. aureus</i>	21
	<i>S. haemolyticus</i>	13
	<i>S. lugdunensis</i>	9
	<i>S. hominis</i>	9
	<i>S. warneri</i>	5
	<i>S. pasteurii</i>	1
<i>Streptococcus</i>	<i>S. mitis</i>	28
	<i>S. oralis</i>	22
	<i>S. parasanguinis</i>	20
	<i>S. vestibularis</i>	13
	<i>S. salivarius</i>	11
	<i>S. pneumoniae</i>	5
	<i>S. peroris</i>	1
	<i>S. agalactiae</i>	1
	<i>S. pseudopneumoniae</i>	1
	<i>S. constellatus</i>	1
<i>S. infantis</i>	1	
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i> sp.	2
<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>	2
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i>	1
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	1
<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.	2
	<i>C. tuberculostearicum</i>	2
	<i>C. argentoratense</i>	1
<i>Klebsiella</i>	<i>K. oxytoca</i>	2
	<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>Paenibacillus</i>	<i>P. amylolyticus</i>	1
<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i> sp.	3
	<i>R. mucilaginosus</i>	2
<i>Neisseria</i>	<i>N. subflava</i>	4
	<i>N. flavescens</i>	2
	<i>Neisseria</i> sp.	1
<i>Kocuria</i>	<i>K. kristinae</i>	1
<i>Gemella</i>	<i>G. haemolysans</i>	7
	<i>Gemella</i> sp.	1
Итого родов — 13 Total genus — 13	Итого видов — 36 Total species — 36	Итого изолятов — 270 Total isolates — 270



ми, суммарная обсеменённость образцов в данной группе и их видовое разнообразие.

Установлено, что АМА сыворотки обратно пропорциональна периоду лактации, на что указывают отрицательное высокое значение коэффициента корреляции и значимые различия величин активности 1-й и 5-й групп ($p < 0,001$). Частота встречаемости и обсеменённость *S. epidermidis* обратно коррелировали с периодом лактации (табл. 2), но были прямо пропорциональны АМА сывороток. Та же закономерность, но менее выраженная, имела место для *S. mitis* и *S. oralis*. Исключение среди часто встречающихся видов составлял *S. aureus*. Другими словами, первые 3 вида преобладали в раннем молозиве, тогда как *S. aureus* — в переходном молоке.

Среди видов, не относящихся к стафилококкам и стрептококкам, преобладал *G. haemolysans*, причём он встречался только в молозиве. Количество образцов с максимальной суммарной обсеменённостью — выше 10^4 КОЕ/мл в 1-й группе составило 54,5%, во 2-й — 42,1%, в 3-й — 23,1%, в 4-й — 10,5%, в 5-й — 5,3%. Суммарная микробная обсеменённость ГМ, оценённая в виде медиан по группам, имела высокую обратную корреляцию с периодом лактации и высокую прямую корреляцию с АМА сыворотки (табл. 2). При этом наиболее значимое снижение обсеменённости отмечено при переходе от 3-й группы к 4-й (после 1 мес лактации), тогда как наиболее значимое снижение активности имело место позже — при переходе от 4-й к 5-й группе (после 8 мес лактации). Другими словами, сниже-

Таблица 2. Взаимосвязь между периодом лактации, АМА сыворотки и наличием микроорганизмов в ГМ
Table 2. The interaction between the lactation period, antimicrobial activity of milk whey and the presence of microorganisms in breast milk

N	Период лактации (медиана) Lactation period (median)	АМ активность (медиана) AM activity (median)	S. epidermidis		S. mitis		S. oralis		S. aureus		Суммарная обсеменённость (медиана) The amount of contamination, CFU/ml (median)	Видовое разнообразие, % Species diversity, %									
			частота встречаемости, % prevalence, %	КОЕ/мл (медиана) CFU/ml (median)	частота встречаемости, % prevalence, %	КОЕ/мл (медиана) CFU/ml (median)	частота встречаемости, % prevalence, %	КОЕ/мл (медиана) CFU/ml (median)	частота встречаемости, % prevalence, %	КОЕ/мл (медиана) CFU/ml (median)											
11	1–2 сут 1–2 days	87,4	81,8	1200	6000	75	3000	9,1	200	9200	43,3										
38	3 сут 3 days	89,4	73,7	2000	4000	31,6	1800	29	400	6800	76,7										
13	4 сут – 1 мес 4 days – 1 month	88,2	69,2	1000	1000	23,1	4000	38,5	100	4200	60										
19	3–8 мес 3–8 months	81,9	68,4	500	150	21,1	0	5,3	2000	560	50										
19	9–27 мес 9–27 months	63,4	57,9	90	60	26,3	210	15,8	80	460	53,3										
Корреляция с периодом лактации, r Correlation with the lactation period, r												-0,977	-0,854	-0,400	-0,674	-0,397	-0,785	-0,413	0,127	-0,806	-0,283
Корреляция с АМА, r Correlation with the activity, r												-	0,827	0,272	0,581	0,288	0,664	0,336	0,079	0,699	0,291

ние обсеменённости было первично по отношению к снижению активности.

Видовое разнообразие, оценённое для каждой группы в целом, имело наименьшее значение в 1-й группе, а наибольшее — во 2-й, далее оно постепенно снижалось по мере увеличения срока лактации. При этом число видов, выделенных из каждого конкретного образца, варьировало от 1 до 5 в 1-й группе (медиана равна 3, среднее значение 2,8), от 1 до 5 — во 2-й (3 и 3,2), от 1 до 4 — в 3-й (3 и 2,9), от 0 до 3 — в 4-й (2 и 1,7), от 1 до 5 — в 5-й (2 и 2,5). Коэффициент корреляции между этим показателем (медианами) и медианами обсеменённости в группах составил 0,888; а между этим показателем и медианами АМА — 0,794.

Между общей обсеменённостью и возрастом матери имела место обратная корреляция высокой силы ($r = -0,787$); тогда как корреляция между АМА сыворотки и возрастом матери практически отсутствовала ($r = -0,333$).

Обсуждение

Грудное вскармливание считают гарантом защиты младенца от инфекционной диареи, что связывают с присутствием в ГМ секреторных антигенов, лактоферрина и прочих факторов защиты [18]. Ранее ГМ считалось стерильным субстратом, но в 2003 г. R. Martin и соавт., используя культуральные методы, показали наличие в нем молочнокислых бактерий [19]. С тех пор проведено немало исследований как традиционными, так и молекулярными методами, и показано, что в ГМ встречается свыше 1000 видов бактерий, грибов и вирусов [20, 21]. Однако есть мнение, что обнаружение в этой биожидкости многих видов типичных обитателей воды и почвы может быть связано с их наличием в используемых для анализа реагентах, растворах и наборах. Показано, однако, что так называемый «соге», т.е. основу микробиома ГМ, составляют роды *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* и *Propionibacterium* [22], а по обилию и видовому разнообразию первые два значительно превосходят остальные роды [23]. По этой причине молочнокислые и пропионовые бактерии не были включены в настоящее исследование, а основной целью данной работы явилась оценка условно-патогенной микробиоты ГМ на разных сроках лактации во взаимосвязи со способностью данного субстрата противостоять микробным агентам.

Культуральный метод учёта микроорганизмов позволяет оценить количество жизнеспособных клеток, а применяемый метод идентификации — MALDI-TOF спектрометрия — расширяет спектр идентифицируемого микробиома. Полученные нами данные о видовом составе ГМ во многом согласуются с данными других авторов. В частности, наиболее часто встречающимся видом оказался

S. epidermidis, который является маркером, отличающим микробиом кишечника младенцев, находящихся на грудном и на искусственном вскармливании [24]. В то же время этот вид бактерий населяет здоровую кожу человека [25], поэтому вполне понятен источник его в ГМ. Такой вид стафилококков, как *S. aureus*, тоже часто встречается на коже человека в норме — показано его наличие у 30,8% людей без клинических симптомов кожных заболеваний [26]. Некоторые виды стрептококков, а также *Gemella* spp. и *Rothia* spp. считают нормальными обитателями полости рта, поэтому они могут попасть в ГМ непосредственно от младенца [27]. Однако возможен и обратный перенос, поскольку эти микроорганизмы обнаруживали в родовых выделениях из молочных желёз [28]. В пользу этого свидетельствует обнаруженное в данном исследовании присутствие *G. haemolysans* именно в 1–3-суточном молозиве.

Данные по обсеменённости ГМ условно-патогенными микроорганизмами в разные периоды лактации несколько противоречивы. Например, показано, что общее количество микроорганизмов в молозиве составляло 10^4 – 10^5 КОЕ/мл, тогда как в зрелом и переходном молоке оно было примерно на порядок выше [29]. При этом стрептококки и стафилококки составляли по 10^3 – 10^4 КОЕ/мл и практически не менялись с увеличением срока лактации. Напротив, в другой работе показано, что стафилококки и стрептококки наряду с некоторыми другими видами занимали большую часть микробиома молозива, тогда как их содержание в переходном и зрелом молоке было значительно ниже [30]. Оба этих исследования проведены молекулярными методами. В настоящем исследовании показано, что по мере увеличения срока лактации падает не только содержание жизнеспособных клеток стафилококков и стрептококков, но и общая биомасса условно-патогенных бактерий. В то же время видовое разнообразие в молозиве в целом несколько выше, чем в переходном и зрелом молоке, что согласуется с данными других авторов [7]. Обращает на себя внимание тот факт, что раннее молозиво (1–2-е сутки) по видовому разнообразию беднее, чем 3-суточное молозиво.

Ранее нами показано, что АМА сыворотки была максимальной в начале лактации, но по мере увеличения периода лактации значимо снижалась, коррелируя с концентрациями sIgA, лактоферрина и сывороточного альбумина, которые составляют наибольший противомикробный потенциал сыворотки [16]. В работе Р. Mastromarino и соавт. показано, что содержание основного антимикробного пептида ГМ — лактоферрина — не коррелировало с содержанием бифидо- и лактобактерий: уровень лактоферрина снижался при переходе от молозива к зрелому молоку, тогда как концентра-

ция нормальной микрофлоры оставалась на том же уровне — 10^2 КОЕ/мл лактобацилл и 10^3 КОЕ/мл бифидобактерий [31]. Данные о взаимосвязи sIgA и микробиоты представлены лишь исследованиями микробиома кишечника новорождённых, но не микробиома ГМ [32].

Снижение АМА сыворотки подтверждено и в настоящем исследовании, при этом установлено, что общая обсеменённость молока условно-патогенными микроорганизмами и их видовое разнообразие также уменьшались в указанный период. При этом значимое снижение обсеменённости отмечено после 1 мес от начала лактации, тогда как значимое снижение АМА — после 8 мес. То есть изменение факторов антимикробной защиты сыворотки ГМ происходит в ответ на изменение биомассы условно-патогенной микробиоты. Подобных исследований в доступной литературе не обнаружено. Причиной первичного снижения биомассы условно-патогенных бактерий могут быть как их конкурентные взаимоотношения с нормобиотическими видами, так и растущий объём производимого ГМ при переходе к зрелому молоку.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кольганова Т.И., Арзумян В.Г., Хорошко Н.В., Зверев В.В. Различия гуморальных факторов иммунной защиты грудного молока и молозива. *Вопросы детской диетологии*. 2021; (19): 1–8. <https://doi.org/10.20953/1727-5784-2021-2-33-40>
2. Martín V., Maldonado-Barragán A., Moles L., Rodríguez-Baños M., Campo R.D., Fernández L., et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J. Hum. Lact.* 2012; 28(1): 36–44. <https://doi.org/10.1177/0890334411424729>
3. Thompson A.L., Monteagudo-Mera A., Cadenas M.B., Lampl M.L., Azcarate-Peril M.A. Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2015; 5: 3. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00003>
4. Rogier E.W., Frantz A.L., Bruno M.E., Wedlund L., Cohen D.A., Stromberg A.J., et al. Secretory antibodies in breast milk promote long-term intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota and host gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(8): 3074–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315792111>
5. Schwartz S., Friedberg I., Ivanov I.V., Davidson L.A., Goldsby J.S., Dahl D.B., et al. A metagenomic study of diet-dependent interaction between gut microbiota and host in infants reveals differences in immune response. *Genome Biol.* 2012; 13(4): r32. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-4-r32>
6. Praveen P., Jordan F., Priami C., Morine M.J. The role of breast-feeding in infant immune system: a systems perspective on the intestinal microbiome. *Microbiome.* 2015; 3: 41. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0104-7>
7. Stinson L.F., Sindi A.S.M., Cheema A.S., Lai C.T., Mühlhäusler B.S., Wlodek M.E., et al. The human milk microbiome: who, what, when, where, why, and how? *Nutr. Rev.* 2021; 79(5): 529–43. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa029>
8. Williams J.E., Carrothers J.M., Lackey K.A., Beatty N.F., Brooker S.L., Peterson H.K., et al. Strong multivariate relations exist among milk, oral, and fecal microbiomes in mother-infant

- dyads during the first six months postpartum. *J. Nutr.* 2019; 149(6): 902–14. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy299>
9. Latuga M.S., Stuebe A., Seed P.C. A review of the source and function of microbiota in breast milk. *Semin. Reprod. Med.* 2014; 32(1): 68–73. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1361824>
 10. Николаева И.В., Бондаренко В.М., Фиалкина С.В., Коновалова Г.Н., Купчихина Л.А., Анохин В.А. Влияние микрофлоры матери на состав микроценоза кишечника ребенка в период грудного вскармливания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2008; 85(5): 87–92.
 11. Sakwinska O., Bosco N. Host microbe interactions in the lactating mammary gland. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 1863. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01863>
 12. Gomez-Gallego C., Garcia-Mantrana I., Salminen S., Collado M.C. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2016; 21(6): 400–405. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2016.05.003>
 13. Sanjulián L., Lamas A., Barreiro R., Cepeda A., Fente C.A., Regal P. Bacterial diversity of breast milk in healthy Spanish women: evolution from birth to five years postpartum. *Nutrients.* 2021; 13(7): 2414. <https://doi.org/10.3390/nu13072414>
 14. Drago L., Toscano M., De Grandi R., Grossi E., Padovani E.M., Peroni D.G. Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. *ISME J.* 2017; 11(4): 875–84. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.183>
 15. Кольганова Т.И., Арзуманян В.Г., Богданова Е.А., Зверев В.В. Альтернативные методы оценки противомикробной активности сыворотки грудного молока. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021; 171(4): 525–8. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-171-4-525-528>
 16. Арзуманян В.Г., Кольганова Т.И., Свитич О.А., Самойликов П.В., Конаныхина С.Ю., Зайцева Т.А. и др. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в активную микробную активность сыворотки грудного молока. *Инфекция и иммунитет.* 2022; 12(3): 519–26. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GPO-1759>
 17. Арзуманян В.Г., Михайлова Н.А., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М., Варганова Н.О., Ерофеева Т.В. и др. Способ определения противомикробной активности цельной сыворотки и фракции её антимикробных пептидов. Патент РФ № 2686337; 2018.
 18. Morrow A.L., Rangel J.M. Human milk protection against infectious diarrhea: implications for prevention and clinical care. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* 2004; 15(4): 221–8. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2004.07.002>
 19. Martin R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin M.L., Xaus J., et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J. Pediatr.* 2003; 143: 754–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.09.028>
 20. Boix-Amorós A., Puente-Sánchez F., du Toit E., Linderborg K.M., Zhang Y., Yang B., et al. Mycobiome profiles in breast milk from healthy women depend on mode of delivery, geographic location, and interaction with bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85: e02994–18. <https://doi.org/10.1128/aem.02994-18>
 21. Consales A., Cerasani J., Sorrentino G., Morniroli D., Colombo L., Mosca F., et al. The hidden universe of human milk microbiome: origin, composition, determinants, role, and future perspectives. *Eur. J. Pediatr.* 2022; 181(5): 1811–20. <https://doi.org/10.1007/s00431-022-04383-1>
 22. Ojo-Okunola A., Nicol M., Du Toit E. Human breast milk bacteriome in health and disease. *Nutrients.* 2018; 10: 1643. <https://doi.org/10.3390/nu10111643>
 23. Hunt K.M., Foster J.A., Forney L.J., Schütte U.M., Beck D.L., Abdo Z., et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One.* 2011; 6(6): e21313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021313>
 24. Jiménez E., Delgado S., Maldonado A., Arroyo R., Albújar M., García N., et al. *Staphylococcus epidermidis*: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 143. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-143>
 25. Арзуманян В.Г., Зайцева Е.В., Кабаева Т.И., Темпер Р.М. Оценка стафилококковой и нелипофильной дрожжевой микрофлоры кожи у больных с кожной патологией при контактном способе посева. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2004; (6): 3–6.
 26. Заброва В.А., Арзуманян В.Г., Артемьева Т.А., Бутовченко Л.М., Гуревич К.Г., Ивкина М.В. Особенности стафилококковой микрофлоры кожи у спортсменов разных специализаций. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2015; (1): 78–82.
 27. Biagi E., Aceti A., Quercia S., Beghetti I., Rampelli S., Turroni S., et al. Microbial Community Dynamics in Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut in Moderately Preterm Infants. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2512. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02512>
 28. Ruiz L., Bacigalupe R., García-Carral C., Boix-Amorós A., Argüello H., Silva C.B., et al. Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8435. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42514-1>
 29. Khodayar-Pardo P., Mira-Pascual L., Collado M.C., Martínez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J. Perinatol.* 2014; 34(8): 599–605. <https://doi.org/10.1038/jp.2014.47>
 30. Cabrera-Rubio R., Collado M.C., Laitinen K., Salminen S., Isolauri E., Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012; 96(3): 544–51. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.037382>
 31. Mastromarino P., Capobianco D., Campagna G., Laforgia N., Drimaco P., Dileone A., et al. Correlation between lactoferrin and beneficial microbiota in breast milk and infant's feces. *Bio-metals.* 2014; 27(5): 1077–86. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9762-3>
 32. Guo J., Ren C., Han X., Huang W., You Y., Zhan J. Role of IgA in the early-life establishment of the gut microbiota and immunity: Implications for constructing a healthy start. *Gut. Microbes.* 2021; 13(1): 1–21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1908101>
- #### REFERENCES
1. Kolyganova T.I., Arzumanyan V.G., Khoroshko N.V., Zverev V.V. Differences in the humoral factors of the immune defence of breast milk and colostrum. *Voprosy detskoy dietologii.* 2021; (19): 1–8. <https://doi.org/10.20953/1727-5784-2021-2-33-40> (in Russian)
 2. Martín V., Maldonado-Barragán A., Moles L., Rodríguez-Baños M., Campo R.D., Fernández L., et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J. Hum. Lact.* 2012; 28(1): 36–44. <https://doi.org/10.1177/0890334411424729>
 3. Thompson A.L., Monteagudo-Mera A., Cadenas M.B., Lampl M.L., Azcarate-Peril M.A. Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2015; 5: 3. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00003>
 4. Rogier E.W., Frantz A.L., Bruno M.E., Wedlund L., Cohen D.A., Stromberg A.J., et al. Secretory antibodies in breast milk promote long-term intestinal homeostasis by regulating the gut microbiota and host gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(8): 3074–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315792111>

5. Schwartz S., Friedberg I., Ivanov I.V., Davidson L.A., Goldsby J.S., Dahl D.B., et al. A metagenomic study of diet-dependent interaction between gut microbiota and host in infants reveals differences in immune response. *Genome Biol.* 2012; 13(4): r32. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-4-r32>
6. Praveen P., Jordan F., Priami C., Morine M.J. The role of breast-feeding in infant immune system: a systems perspective on the intestinal microbiome. *Microbiome.* 2015; 3: 41. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0104-7>
7. Stinson L.F., Sindi A.S.M., Cheema A.S., Lai C.T., Mühlhäusler B.S., Wlodek M.E., et al. The human milk microbiome: who, what, when, where, why, and how? *Nutr. Rev.* 2021; 79(5): 529–43. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa029>
8. Williams J.E., Carrothers J.M., Lackey K.A., Beatty N.F., Brooker S.L., Peterson H.K., et al. Strong Multivariate Relations Exist Among Milk, Oral, and Fecal Microbiomes in Mother-Infant Dyads During the First Six Months Postpartum. *J. Nutr.* 2019; 149(6): 902–14. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy299>
9. Latuga M.S., Stuebe A., Seed P.C. A review of the source and function of microbiota in breast milk. *Semin. Reprod. Med.* 2014; 32(1): 68–73. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1361824>
10. Nikolaeva I.V., Bondarenko V.M., Fialkina S.V., Konovalova G.N., Kupchikhina L.A., Anokhin V.A. Influence of maternal microflora on the composition of infants' intestinal microecosis during breastfeeding. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2008; 85(5): 87–92. (in Russian)
11. Sakwinska O., Bosco N. Host microbe interactions in the lactating mammary gland. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 1863. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01863>
12. Gomez-Gallego C., Garcia-Mantrana I., Salminen S., Collado M.C. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2016; 21(6): 400–405. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2016.05.003>
13. San Julián L., Lamas A., Barreiro R., Cepeda A., Fente C.A., Regal P. Bacterial diversity of breast milk in healthy Spanish women: tvolution from birth to five years postpartum. *Nutrients.* 2021;13(7): 2414. <https://doi.org/10.3390/nu13072414>
14. Drago L., Toscano M., De Grandi R., Grossi E., Padovani E.M., Peroni D.G. Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. *ISME J.* 2017; 11(4): 875–84. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.183>
15. Kolyganova T.I., Arzumanyan V.G., Bogdanova E.A., Zverev V.V. Alternative methods of evaluation of antimicrobial activity of breast milk serum. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2021; 171(4): 525–8. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-171-4-525-528> (in Russian)
16. Arzumanyan V.G., Kolyganova T.I., Svitich O.A., Samoylikov P.V., Konanykhina S.Yu., Zaytseva T.A., et al. An impact of lactoferrin, serum albumin and secretory immunoglobulin A in antimicrobial activity of breast milk whey. *Infektsiya i immunitet.* 2022; 12(3): 519–26. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GPO-1759> (in Russian)
17. Arzumanyan V.G., Mikhaylova N.A., Artem'eva T.A., Butovchenko L.M., Vartanova N.O., Erofeeva T.V., et al. A method for determining the antimicrobial activity of whole serum and the fraction of its antimicrobial peptides. Patent RF № 2686337; 2018. (in Russian)
18. Morrow A.L., Rangel J.M. Human milk protection against infectious diarrhea: implications for prevention and clinical care. *Semin. Pediatr. Infect. Dis.* 2004; 15(4): 221–8. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2004.07.002>
19. Martin R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin M.L., Xaus J., et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J. Pediatr.* 2003; 143: 754–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.09.028>
20. Boix-Amorós A., Puente-Sánchez F., du Toit E., Linderborg K.M., Zhang Y., Yang B., et al. Mycobiome profiles in breast milk from healthy women depend on mode of delivery, geographic location, and interaction with bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85: e02994–18. <https://doi.org/10.1128/aem.02994-18>
21. Consales A., Cerasani J., Sorrentino G., Morniroli D., Colombo L., Mosca F., et al. The hidden universe of human milk microbiome: origin, composition, determinants, role, and future perspectives. *Eur. J. Pediatr.* 2022; 181(5): 1811–20. <https://doi.org/10.1007/s00431-022-04383-1>
22. Ojo-Okunola A., Nicol M., Du Toit E. Human breast milk bacteriome in health and disease. *Nutrients.* 2018; 10: 1643. <https://doi.org/10.3390/nu10111643>
23. Hunt K.M., Foster J.A., Forney L.J., Schütte U.M., Beck D.L., Abdo Z., et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One.* 2011; 6(6): e21313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021313>
24. Jiménez E., Delgado S., Maldonado A., Arroyo R., Albújar M., García N., et al. *Staphylococcus epidermidis*: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 143. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-143>
25. Arzumanyan V.G., Zaytseva E.V., Kabaeva T.I., Temper R.M. Evaluation of staphylococcal and non-lipophilic yeast microflora of the skin in patients with skin pathology with contact seeding method. *Vestnik dermatologii i venerologii.* 2004; (6): 3–6. (in Russian)
26. Zaborova V.A., Arzumanyan V.G., Artem'eva T.A., Butovchenko L.M., Gurevich K.G., Ivkina M.V. Peculiarities of the skin staphylococcal microflora in athletes of different specializations. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorov'e».* 2015; (1): 78–82. (in Russian)
27. Biagi E., Aceti A., Quercia S., Beghetti I., Rampelli S., Turroni S., et al. Microbial Community Dynamics in Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut in Moderately Preterm Infants. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2512. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02512>
28. Ruiz L., Bacigalupe R., García-Carral C., Boix-Amorós A., Argüello H., Silva C.B., et al. Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8435. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42514-1>
29. Khodayar-Pardo P., Mira-Pascual L., Collado M.C., Martínez-Costa C. Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *J. Perinatol.* 2014; 34(8): 599–605. <https://doi.org/10.1038/jp.2014.47>
30. Cabrera-Rubio R., Collado M.C., Laitinen K., Salminen S., Isolauri E., Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012; 96(3): 544–51. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.037382>
31. Mastromarino P., Capobianco D., Campagna G., Laforgia N., Drimaco P., Dileone A., et al. Correlation between lactoferrin and beneficial microbiota in breast milk and infant's feces. *Bio-metals.* 2014; 27(5): 1077–86. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9762-3>
32. Guo J., Ren C., Han X., Huang W., You Y., Zhan J. Role of IgA in the early-life establishment of the gut microbiota and immunity: Implications for constructing a healthy start. *Gut. Microbes.* 2021; 13(1): 1–21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1908101>

Информация об авторах

Арзуманян Вера Георгиевна — д.б.н., профессор, зав. лаб. физиологии грибов и бактерий НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>

Колыганова Татьяна Игоревна — ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; м.н.с. НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, kolyganova_t_i@staff.sechenov.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9065-9786>

Вартанова Нунэ Оганесовна — к.б.н., с.н.с. НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6372-9910>

Ожован Ирина Михайловна — к.б.н., с.н.с. НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, <https://orcid.org/0000-0002-8129-0817>

Краецова Елена Олеговна — к.м.н., доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9100-0422>

Зверев Виталий Васильевич — д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.11.2022;
принята к публикации 20.01.2022;
опубликована 13.02.2023

Information about the authors

Vera G. Arzumanyan — D. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of physiology of fungi and bacteria, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>

Tatyana I. Kolyganova — assistant, Department of microbiology, virology and immunology, First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; junior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, kolyganova_t_i@staff.sechenov.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9065-9786>

Nune O. Vartanova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6372-9910>

Irina M. Ozhovan — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8129-0817>

Elena O. Kravtsova — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of microbiology, virology and immunology, First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9100-0422>

Vitaly V. Zverev — D. Sci. (Biol.), Professor, Full Member of RAS, scientific director, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.11.2022;
accepted for publication 20.01.2022;
published 13.02.2023

Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-335>

Повышение иммуногенной и протективной активности вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ с использованием синтетических иммуномодуляторов

Гончарова А.Ю.[✉], Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н.

Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия

Аннотация

Введение. Одной из основных задач специфической профилактики чумы остаётся разработка вакцин и схем их применения, направленных на повышение эффективности вакцинации за счёт использования адъювантов и иммуномодуляторов.

Цель исследования — сравнительная оценка действия лекарственных препаратов из группы синтетических иммуномодуляторов на иммуногенные и протективные свойства вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ в модельных опытах на животных.

Материалы и методы. Белых мышей и морских свинок иммунизировали вакцинным штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Животным опытных групп вводили олигопептиды O1 (треонил-глутамил-лизил-лизил-аргинил-аргинил-глутамил-треонил-валил-глутамил-аргинил-глутамил-лизил-глутамат), O2 (глутамил-цистеинил-глицин динатрия) и O3 (аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин) за 1 ч до вакцинации или трехкратно перед заражением. На 3, 14 и 21-е сутки исследовали антитело- и цитокинопродукцию. Заражали тест-штаммом *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 ЛД₅₀.

Результаты. Однократное введение иммуномодуляторов за 1 ч до вакцинации не влияло на значение средней иммунизирующей дозы (ImD₅₀): 5860 (O1), 5860 (O2), 6454 (O3) и 6876 (контроль) КОЕ для белых мышей и 446 (O1), 551 (O2), 446 (O3) и 578 (контроль) КОЕ для морских свинок. Трехкратное введение препаратов вакцинированным животным с уже сформированным иммунитетом приводило к снижению показателей ImD₅₀ *Y. pestis* линии EV НИИЭГ в группе с O1 в 2,2 раза (мыши) и 1,8 раза (морские свинки), с O2 и O3 в 1,2 раза независимо от биомодели по сравнению с контролем. Установлено стимулирующее влияние O1 и O3 на продукцию антител к F1 чумного микроба и цитокинов интерферона- γ , интерлейкина-10.

Заключение. Выявлен стимулирующий потенциал синтетических иммуномодуляторов на иммунную систему биомоделей, иммунизированных *Y. pestis* линии EV НИИЭГ, что определяет перспективность исследований по совершенствованию схем вакцинопрофилактики чумы.

Ключевые слова: чума, живая чумная вакцина, иммуномодуляторы, протективность, иммуногенность, профилактика, цитокины

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Комиссией по биоэтике Российского противочумного института «Микроб» (протоколы № 6 от 14.04.2021, № 11 от 07.12.2021, № 2 от 17.02.2022).

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

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

Для цитирования: Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н. Повышение иммуногенной и протективной активности вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ с использованием синтетических иммуномодуляторов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):84–94.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-335>

Increasing the immunogenic and protective activity of the vaccine strain *Yersinia pestis* EV line NIEG using synthetic immunomodulators

Anastasiya Yu. Goncharova[✉], Svetlana A. Bugorkova, Tatyana N. Shchukovskaya

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia

Abstract

Introduction. One of the main tasks of specific plague prevention remains the development of vaccines and their application schemes aimed at improving the effectiveness of vaccination through the use of adjuvants and immunomodulators.

The **purpose** of the study were comparative evaluation of the effect of drugs from the group of synthetic immunomodulators on the immunogenic and protective properties of the *Yersinia pestis* EV line NIEG vaccine strain in model animal experiments.

Materials and methods. White mice and guinea pigs were immunized with the vaccine strain *Y. pestis* EV line NIEG. The animals of the experimental groups were injected with oligopeptides O1 (Threonyl-glutamyl-lysyl-lysyl-arginyl-arginyl-glutamyl-threonyl-valyl-glutamyl-arginyl-glutamyl-lysyl-glutamate), O2 (Glutamyl-cysteinyl-glycine disodium) and O3 (Arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine) one hour before vaccination or three times before infection. On days 3, 14 and 21, antibody and cytokine products were studied. Animals were infected with the test strain *Y. pestis* 231(708) at a dose of 400 LD₅₀.

Results. It was found that a single administration of immunomodulators 1 hour before vaccination did not change the susceptibility of animals to the plague microbe: ImD₅₀ = 5860 (O1); 5860 (O2); 6454 (O3) and 6876 (control) CFU for white mice and 446 (O1), 551 (O2), 446 (O3) and 578 (control) CFU for guinea pigs. Three-time administration of drugs to vaccinated animals led to a decrease in the ImD₅₀ *Y. pestis* EV line NIEG indicators in the group with O1 by 2.2 times (mice) and 1.8 times (guinea pigs), with O2 and O3 by 1.2 times, regardless of the biomodel compared with the control. The stimulating effect of O1 and O3 on the production of antibodies to F1 of the plague microbe and cytokines interferon-gamma, interleukin-10 has been established.

Conclusion. The stimulating potential of synthetic immunomodulators on the immune system of biomodels immunized by *Y. pestis* EV line NIEG has been demonstrated, which determines the prospects of research to improve the schemes of prophylactic vaccination against plague.

Keywords: plague, live plague vaccine, immunomodulators, productivity, immunogenicity, prevention, cytokines

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" (protocols No. 6, April 14, 2021, No. 11, December 7, 2021, No. 2, February 17, 2022).

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

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

For citation: Goncharova A.Y., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N. Increasing the immunogenic and protective activity of the vaccine strain *Yersinia pestis* EV line NIEG using synthetic immunomodulators. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, épidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):84–94.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-335>

Введение

Реализация современной парадигмы вакцинопрофилактики, обеспечиваемой разработкой дифференцированных подходов к вакцинации с целью создания эффективного иммунитета у каждого прививаемого человека, подразумевает возможность персонализированного использования разных доз и схем вакцинации, а также расширение арсенала адъювантов, иммуномодуляторов, цитокинов и дополнительных средств стимуляции иммунного ответа. В России для специфической профилактики чумы применяется вакцина чумная живая (ВЧЖ) производства Ставропольского научно-исследовательского противочумного института Роспотреб-

надзора и 48 Центрального научно-исследовательского института Министерства обороны РФ. Также лицензирован препарат — вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ) для применения личному составу войск Министерства обороны РФ и МЧС, действующих в чрезвычайных ситуациях [1].

ВЧЖ представляет собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. После вакцинации у большинства привитых формируется напряжённый иммунитет продолжительностью 6–12 мес, качество и длительность которого зависят от возраста, количества предыдущих вакци-

наций против этой инфекции и индивидуальных особенностей генетического полиморфизма генов HLA [2]. Многолетний опыт применения ВЧЖ свидетельствует о необходимости совершенствования подходов к специфической профилактике чумы для создания эффективного иммунитета у каждого прививаемого человека.

Если при разработке субъединичных вакцин применение иммуномодуляторов и адъювантов решает задачу оптимального представления антигенов иммунной системе, способствуя формированию выраженного иммунного ответа с активацией как гуморальных, так и клеточных реакций [3], то в исследованиях по сочетанному введению вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ с азоксимером бромидом (полиоксидоний) [4], синтетическим аналогом лей-энкефалина (даларгин) и синтетическим аналогом двуспиральной РНК (лиганда TLR3) — (Poly(I:C)) [5], рекомбинантным человеческим интерфероном- γ (ИФН- γ) (ингарон) [6], рекомбинантным интерлейкином-1Р (беталейкин) [7] не только получен стимулирующий эффект вакцинации, но и определены точки возможного воздействия на иммунную систему в различные периоды иммуногенеза.

Однако выбор иммуномодулятора не должен быть эмпирическим. В выборе препарата для потенцирования действия вакцины важно учитывать механизм и направленность действия иммуномодулятора на те или иные звенья иммунной системы [8]. В зависимости от происхождения иммуномодуляторы делят на микробные, растительные, человеческие (эндогенные), аналоги природных соединений, полученные путём химического синтеза или с помощью рекомбинантных технологий, и синтетические иммуномодуляторы [9]. Прогресс в области лекарственных средств тимического происхождения шёл по линии создания препаратов II и III поколений — синтетических аналогов природных гормонов тимуса или фрагментов этих гормонов, обладающих биоактивностью. На основе одного из фрагментов, включающего аминокислотные остатки активного центра тимопоэтина, был создан синтетический гексапептид аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин (иммунофан), обладающий выраженными иммуностимулирующими свойствами [9, 10]. К классу тиопоэтинов из группы химически чистых синтетических низкомолекулярных иммуномодуляторов относится синтетический олигопептид глутаксим — глутамил-цистеинил-глицин динатрия, усиливающий костномозговое кроветворение, активирующий фагоцитоз, восстанавливающий функциональную активность макрофагов, инициирующий систему цитокинов, эритропоэтина [11, 12]. Другой низкомолекулярный олигопептид — гепон состоит из 14 аминокислот (Thr-Glu-Lys-Lys-Arg-Arg-Glu-Thr-Val-Glu-Arg-Glu-

Lys-Glu) и вызывает продукцию α - и β -ИФН; мобилизует и активирует макрофаги, стимулирует клеточный и гуморальный иммунитет [9, 13]. И хотя все эти препараты характеризует сходный механизм воздействия на иммунную систему макроорганизма, требует уточнения направленность иммуномодулирующего влияния данных синтетических олигопептидов в условиях сочетанного применения с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.

Цель исследования — сравнительная оценка действия лекарственных препаратов из группы синтетических иммуномодуляторов на иммуногенные и протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ в модельных опытах на животных.

Материалы и методы

Штаммы

В работе использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ и вирулентный штамм *Y. pestis* 231(708) основного подвида, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

Иммуномодулирующие препараты

Олигопептид 1 — О1 (треонил-глутамил-лизил-лизил-аргинил-аргинил-глутамил-треонил-валил-глутамил-аргинил-глутамил-лизил-глутамат; глутаксим), олигопептид 2 — О2 (глутамил-цистеинил-глицин динатрия; гепон) и олигопептид 3 — О3 (аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин; имунофан), все препараты российского производства. Дозы препаратов (табл. 1) были выбраны с учётом данных литературы и на основании предварительных результатов собственных исследований.

Лабораторные животные

Эксперименты проводили на беспородных белых мышцах массой $17,5 \pm 2,5$ г и на морских свинках массой 275 ± 25 г, полученных из питомника РосНИПЧИ «Микроб». Манипуляции с животными, а также выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с законодательством Российской Федерации [14] и Директивой № 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 «О защите животных, использующихся для научных целей» [15]. Протокол исследований одобрен Комиссией по биоэтике при РосНИПЧИ «Микроб» (протоколы № 6 от 14.04.2021, № 11 от 07.12.2021, № 2 от 17.02.2022).

Питательные среды

Культуры штаммов выращивали на агаре Хоттингера рН $7,2 \pm 0,1$ (производство РосНИПЧИ «Микроб»).

Таблица 1. Препараты, использованные для иммунизации биопробных животных

Table 1. Preparations used for immunization of biomodel animals

Препарат, использованный для иммунизации The preparation used for immunization	Иммунизация беспородных белых мышей Immunization of outbred white mice		Иммунизация беспородных морских свинок Immunization of outbred guinea pigs	
	доза, мкг dose, µg	<i>n</i>	доза, мкг dose, µg	<i>n</i>
O1	10	40* + 80** + 40***	100	12* + 15**
O2	30	40* + 80** + 40***	300	14* + 15**
O3	1	40* + 80** + 40***	10	12* + 15**

Примечание. * — животные, иммунизированные однократно; ** — животные, иммунизированные трёхкратно; *** — животные, использованные для определения значения ЛД₅₀.

Note. * — animals immunized once; ** — animals immunized three times; *** — animals used to determine the LD₅₀.

Оценка иммуногенности и протективности

Оценку влияния иммуномодулирующих препаратов на показатели иммуногенности и протективности вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ проводили в соответствии с МУ 3.3.1.1113-02 «Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба» [16]. Рассчитывали иммунизирующую дозу (ImD₅₀), защищающую 50% вакцинированных животных от летального заражения вирулентным штаммом *Y. pestis* 231(708) на 21-е сутки после вакцинации.

Для этого беспородных белых мышей (по 10 особей на каждую иммунизирующую дозу) иммунизировали 2-суточной агаровой культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ подкожно в дозах 2×10^2 , 10^3 , 5×10^3 и $2,5 \times 10^4$ КОЕ в объёме 0,2 мл. Животным опытных групп за 1 ч до вакцинации (1-я схема) и трёхкратно до заражения (2-я схема) подкожно вводили олигопептиды 1, 2 и 3 в дозах 10, 30 и 1 мкг соответственно. Морских свинок иммунизировали подкожно в область верхней трети правого бедра 2-суточной агаровой культурой *Y. pestis* EV линии НИИЭГ в дозах 4×10^1 , 2×10^2 , 10^3 , 5×10^3 КОЕ в объёме 0,5 мл. Животным опытных групп за 1 ч до вакцинации (1 схема) и трёхкратно до заражения (2 схема) подкожно вводили олигопептиды 1, 2 и 3. На 21-е сутки после иммунизации всех животных заражали культурой вирулентного штамма основного подвида *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 ЛД₅₀ подкожно в область верхней трети левого бедра.

Для определения значения ЛД₅₀ заражающего штамма *Y. pestis* 231(708) интактных беспородных белых мышей подкожно заражали тест-штаммом *Y. pestis* 231(708) в пятикратно возрастающей концентрации от 1 до 125 КОЕ. Наблюдение за животными осуществляли в течение 20 сут. Гибель от чумы подтверждали наличием характерных для чумной инфекции патолого-анатомических изменений, чумного микроба в окрашенных по Граму мазках — отпечатках органов павших животных, положительного результата высевов из органов и крови на пластинки агара Хоттингера pH 7,2 ±

0,1, содержащие стимулятор роста сульфит натрия ($0,024 \pm 0,001\%$) и генцианвиолет ($0,0045 \pm 0,0005\%$).

Цитокиновый профиль

Определение уровня продукции цитокинов проводили на 3, 14 и 21-е сутки иммуногенеза с помощью твёрдофазного иммуоферментного анализа с применением коммерческих тест-систем («BioScience») на автоматическом иммуоферментном анализаторе «Lazurit» («Dy nex Technologies») при длине волны 450 нм. Для оценки продукции цитокинов ИФН-γ и интерлейкина-10 (ИЛ-10) венозную кровь с антикоагулянтом (гепарин, ОАО «Синтез») разводили в соотношении 1 : 4 средой RPMI-1640 («PanEco»), содержащей 100 мкг/мл гентамицина («Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашкo»), затем делили на 2 равные части. В одну часть вносили 100 мкл Т-клеточного митогена конканавалина А («Sigma») в конечной концентрации 15 мкг/мл (индуцированная продукция), в другую — 100 мкл физиологического раствора (спонтанная продукция). Образцы инкубировали в течение 24 ч при 37°C [17]. После инкубации клетки осаждали центрифугированием в стандартных условиях и отбирали супернатанты.

Выявление специфических антител

Специфические антитела к капсульному антигену чумного микроба (F1) определяли в сыворотке крови экспериментальных животных на 21-е сутки иммуногенеза методом твёрдофазного иммуоферментного анализа с использованием коммерческой тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 *Yersinia pestis*» (РосНИПЧИ «Микроб»). Активность антител в сыворотке определяли в 3 повторах и выражали в виде обратного среднегеометрического титра и его средней квадратической ошибки.

Морфологические исследования

Макроскопические изменения у умерщвлённых хлороформом животных описывали по стандартной схеме, учитывая характер и объём повреждения во внутренних органах. Для гистологического

исследования в 10% водный нейтральный раствор формалина забирали кусочки внутренних органов (печень, почки, селезёнка, тимус, лимфатические узлы, надпочечники, сердце, лёгкие). Из фиксированного материала, применяя стандартную схему проводки гистологического материала, готовили парафиновые блоки. Готовые полутонкие срезы органов, окрашенные гематоксилином и эозином, просматривали в световом микроскопе «Olympus CX41» («Olympus»), фиксируя результат с помощью цифровой камеры «VZ-C31S» («VideoZavr») в программе «VideoZavr v. 1.5».

Статистические методы

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием стандартного пакета программ «Microsoft Office Excel 2010» и «Statistica 10.0» («StatSoft Inc.»). Взаимосвязь между переменными определяли с помощью рангового корреляционного анализа по Спирмену. Данные представляли в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — средняя квадратическая ошибка средней арифметической. Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с помощью парного t -критерия Стьюдента. Корреляцию считали достоверной при $p \leq 0,05$. Величины ImD_{50} и LD_{50} рассчитывали по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [18].

Результаты

На первом этапе проводили расчёт LD_{50} заражающего вирулентного штамма основного подвида *Y. pestis* 231(708) и оценку влияния иммуномодуляторов O1, O2 и O3 на изменение показателя LD_{50} заражающего вирулентного штамма основного

подвида *Y. pestis* 231(708). Невакцинированным животным перед заражением трёхкратно подкожно вводили иммуномодуляторы. Если для интактных белых мышей LD_{50} штамма *Y. pestis* 231(708) составила 5 (4–6) КОЕ, то в группе животных, которым перед заражением трёхкратно подкожно был введён иммуномодулятор O1, — 16 (13–18) КОЕ, т.е. был в 3 раза выше, чем у неиммунизированных животных (рис. 1, а), и коррелировал с увеличением средней продолжительности жизни у павших животных этой группы в среднем на 36 ч (рис. 1, б). Применение иммуномодуляторов O2 и O3 в аналогичной схеме существенно не влияло на развитие чумной инфекции у биомодели и не изменяло значение LD_{50} заражающего штамма.

Действие олигопептидных иммуномодуляторов в условиях моделирования бубонной формы чумы

Далее была осуществлена оценка эффективности применения лекарственных средств, относящихся к группе низкомолекулярных олигопептидов, при экспериментальной чуме у разных видов лабораторных животных (беспородные белые мыши, морские свинки), ранее иммунизированных вакцинным штаммом EV, по интегральному показателю ImD_{50} и выживаемости. Нами установлено, что иммунизация экспериментальных животных вакцинным штаммом чумного микроба *Y. pestis* EV линии НИИЭГ на фоне введения исследуемых препаратов приводит к повышению напряжённости адаптивного противочумного иммунитета. Существенные отличия в полученных данных обусловлены разницей во времени и кратности введения иммуномодуляторов (табл. 2). Однократное введение выбранных

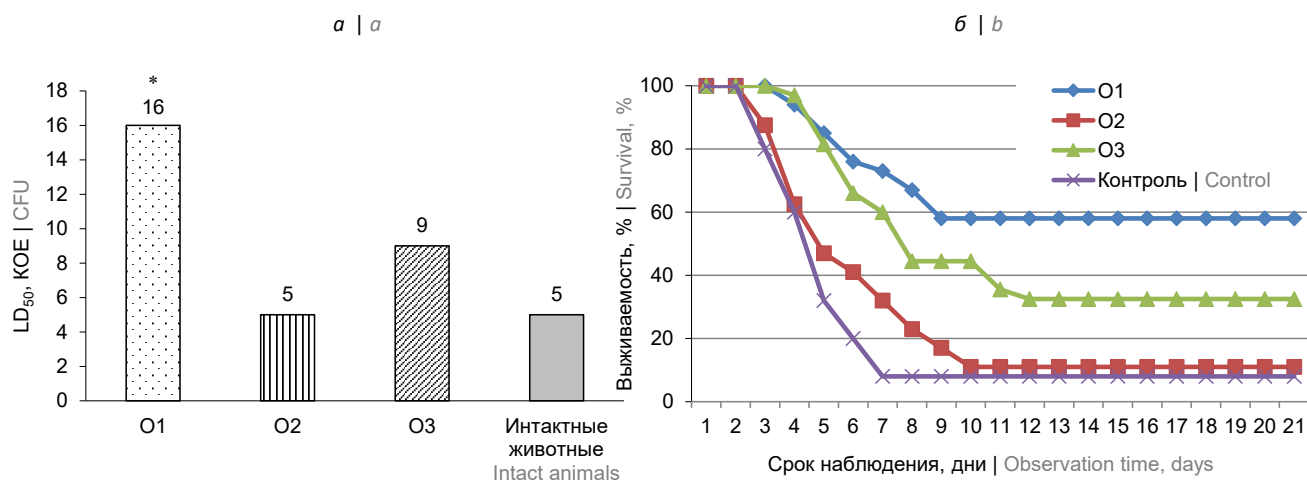


Рис. 1. Влияние олигопептидов O1, O2, O3 на значение LD_{50} (а) и продолжительность жизни белых мышей (б) в условиях подкожного заражения вирулентным штаммом *Y. pestis* 231(708).

* $p < 0,05$ по сравнению с неиммунизированными животными.

Fig. 1. Influence of oligopeptides O1, O2, O3 on the LD_{50} (a) and on the survival of white mice (b) under conditions of subcutaneous infection with the virulent strain *Y. pestis* 231(708).

* $p < 0.05$ when compared with intact animals.

Таблица 2. Влияние олигопептидных препаратов O1, O2, O3 при однократном и трёхкратном введении на защитное действие вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV линии НИИЭГ при заражении белых мышей 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231 ($M \pm m$)

Table 2. Influence of oligopeptide preparations O1, O2, O3 with single and triple administration on the protective efficacy of vaccine strain *Y. pestis* EV line NIIEG at lethal challenge white mice with 400 LD₅₀ *Y. pestis* strain 231 ($M \pm m$)

Доза иммунизирующего препарата <i>Y. pestis</i> EV линии НИИЭГ, КОЕ Immunization strain <i>Y. pestis</i> EV line NIIEG dose, CFU	Число выживших животных/общее количество Number of animals (survived/inoculated)		Средняя продолжительность жизни, сут Mean time-to-death, days		ImD ₅₀ , КОЕ ImD ₅₀ , CFU	
	схема 1 scheme 1	схема 2 scheme 2	схема 1 scheme 1	схема 2 scheme 2	схема 1 scheme 1	схема 2 scheme 2
5,0 × 10 ³	4/10	4/10	4,3 ± 0,1	4,4 ± 0,2	6876	1824
2,5 × 10 ⁴	5/10	6/10	5,8 ± 0,6*	5,4 ± 0,1*		
5,0 × 10 ³ + O1	4/10	8/10	4,4 ± 0,8	5,5 ± 0,4*	5860	1492
2,5 × 10 ⁴ + O1	6/10	8/10	4,9 ± 0,6*	6,4 ± 0,8*		
5,0 × 10 ³ + O2	5/10	8/10	4,8 ± 0,1*	6,9 ± 0,4*	5860	1492
2,5 × 10 ⁴ + O2	5/10	7/10	5,8 ± 0,3*	7,5 ± 0,3#		
5,0 × 10 ³ + O3	5/10	6/8	4,8 ± 0,3	6,8 ± 0,4*	6454	816
2,5 × 10 ⁴ + O3	4/9	7/10	5,6 ± 0,2*	7,1 ± 0,4#		
Физиологический раствор PBS	0/10		3,5 ± 0,5		—	

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с неиммунизированными животными; # $p < 0,05$ по сравнению с животными, иммунизированными только *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.
Note. * $p < 0.05$ when compared with intact animals; # $p < 0.05$ when compared with animals immunized with only *Y. pestis* line EV NIIEG.

олигопептидов совместно с вакцинным штаммом оказывало минимальное влияние на эффективность защиты животных от чумы. Трёхкратное введение препаратов перед заражением приводило к снижению показателей ImD₅₀ *Y. pestis* EV линии НИИЭГ на фоне применения O1 и O2 в 1,2 раза, O3 — в 2,2 раза по сравнению с животными, иммунизированными только вакцинным штаммом. Средняя продолжительность жизни павших биопробных животных увеличилась в среднем на 1 сут.

Изучение действия олигопептидных иммуномодуляторов на протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ повторили на морских свинках как на более адекватной модели чумной инфекции [19]. У иммунизированных иммуномодуляторами по тем же схемам морским свинкам регистрировали снижение ImD₅₀ по сравнению с морскими свинками, иммунизированными только вакцинным штаммом EV. Однако изменение протективности в ответ на применение иммуномо-

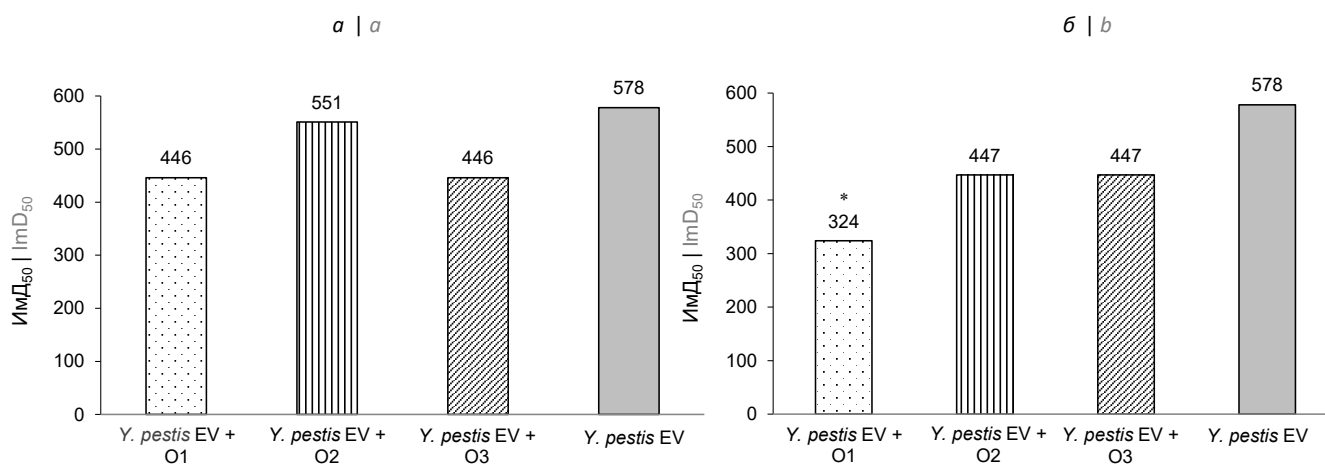


Рис. 2. Значение ImD₅₀ для штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ на фоне введения олигопептидов O1, O2, O3 по схеме 1 (а) и схеме 2 (б) перед заражением морских свинок 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231.

* $p < 0,05$ при сравнении с вакцинированными только *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.

Fig. 2. The mean ImD₅₀ values of *Y. pestis* strain EV line NIIEG in treatment groups with oligopeptides O1, O2, O3 according to scheme 1 (2a) and scheme 2 (2b) before lethal challenge of guinea pigs with 400 LD₅₀ *Y. pestis* strain 231.

* $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV line NIIEG.

дуляторов у этой биомодели было менее выраженным, чем у белых мышей (рис. 2). Максимальное снижение показателя отмечали на сочетанное применение О1 по схеме 2 — в 1,8 раза.

Кроме того было зафиксировано достоверное ($p < 0,05$) увеличение инкубационного периода и средней продолжительности жизни животных. Наиболее выраженные изменения продолжительности жизни павших морских свинок по сравнению с контрольной группой животных отмечались при применении О2 — в 1,7 раза (до 8 сут) и О1 — в 2,3 раза (до 11 сут).

Влияние олигопептидных иммуномодуляторов на иммуногенные свойства *Y. pestis* линии EV НИИЭГ

У всех иммунизированных белых мышей выявляли антитела к F1 чумного микроба (табл. 3). Сочетанная вакцинация *Y. pestis* EV линии НИИЭГ с О1 приводила к наиболее значимому повышению титров антител к капсульному антигену чумного микроба по сравнению с группами биопробных

животных, иммунизированных только вакцинным штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Напротив, О3 при совместном введении с вакцинным штаммом EV вызывал снижение титров детектируемых антител. Включение О2 в схему иммунизации мышей вакцинным штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ существенно не влияло на выработку антител к F1 чумного микроба. Исследование уровня специфических антител у морских свинок показало, что введение иммуномодулирующих препаратов не давало достоверно значимого изменения уровня антител. Обратные значения среднегеометрического титра у иммунизированных О1 и О2 животных составляли 1500 ± 406 , а на введение О3 даже зарегистрировано некоторое снижение титров антител к F1 чумного микроба — 1 на $1213,3 \pm 60,3$ ($p < 0,1$).

Уровни цитокинов в сыворотке крови мышей определяли в опытах *in vivo* через 3, 14 и 21 сут после трёхкратной иммунизации препаратами олигопептидов. Из анализа представленных в табл. 3 данных видно, что иммунизация мышей препара-

Таблица 3. Динамика продукции цитокинов и антител к F1 *Y. pestis* при введении иммуномодулирующих препаратов у иммунизированных белых мышей Me (Q_1-Q_3)

Table 3. Dynamics of cytokine production and antibodies to F1 *Y. pestis* following the administration of immunomodulatory preparations in immunized white mice Me (Q_1-Q_3)

Группа Group (n = 30)	Срок, сут Duration of the study, day	ИФН- γ , пг/мл, Me (Q_1-Q_3) INF- γ , pg/ml, Me (Q_1-Q_3)		ИЛ-10, пг/мл, Me (Q_1-Q_3) IL-10, pg/ml, Me (Q_1-Q_3)		Обратные значения среднегеометрического титра ($M \pm m$) Geometric mean reciprocal titers to F1 <i>Y. pestis</i> protein ($M \pm m$)
		Sp	Ind	Sp	Ind	
<i>Y. pestis</i> EV линии НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ) <i>Y. pestis</i> EV line NIIEG ($2,5 \times 10^4$ CFU)	3	28,2 (21,3–35,2)	57,1 (53,3–63,6)	11,2 (8,8–11,5)	15,4 (11,8–16,2)	–
	14	22,2 (15,7–29,9)	40,6 (37,6–60,6)	12,2 (7,2–15,5)	16,9 (9,9–20,7)	–
	21	20,3 (13,7–27,9)	42,6 (23,5–54,7)	14,2 (9,8–17,2)	17,9 (11,1–22,3)	512 \pm 35,43
<i>Y. pestis</i> EV линии НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + О1) <i>Y. pestis</i> EV line NIIEG ($2,5 \times 10^4$ CFU + О1)	3	39,1 (31,6–54,7)	67,9 (39,3–77,4)	29,5* (20,8–40,4)	38,2* (23,9–52,4)	–
	14	38,2 (26,2–50,6)	62,1 (42,1–83,9)	20,33 (14,4–26,7)	25,5* (14,0–54,7)	–
	21	20,2 (12,2–38,7)	66,7 (40,5–87,0)	11,1 (4,4–23,1)	25,6* (18,9–44,0)	873 \pm 84,4*
<i>Y. pestis</i> EV линии НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + О2) <i>Y. pestis</i> EV line NIIEG ($2,5 \times 10^4$ CFU + О2)	3	37,9 (26,4–49,6)	68,2 (65,3–69,8)	19,2 (18,9–22,8)	24,3 (11,5–30,4)	–
	14	34,1 (28,5–50,5)	67,7 (55,6–73,9)	19,1 (11,7–25,3)	24,2 (19,7–34,2)	–
	21	28,1 (22,8–31,6)	51,7 (46,7–66,8)	14,5 (8,6–23,3)	19,4 (8,6–36,8)	512 \pm 40,4
<i>Y. pestis</i> EV линии НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + О3) <i>Y. pestis</i> EV line NIIEG ($2,5 \times 10^4$ CFU + О3)	3	42,6* (23,5–54,7)	102,1* (82,1–113,9)	30,33* (24,4–36,7)	45,5* (34,0–64,7)	–
	14	30,2 (29,4–31,7)	75,5* (69,2–79,3)	20,1 (14,9–23,1)	34,3* (29,1–40,7)	–
	21	27,1 (20,2–34,1)	62,5 (59,5–71,0)	17,7 (14,0–19,8)	22,9 (19,6–24,7)	324 \pm 25,9

Примечание. Sp — спонтанная продукция; Ind — индуцированная продукция; * $p < 0,05$ по сравнению с группой, иммунизированной только *Y. pestis* EV линии НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ).

Note. Sp — spontaneous production; Ind — induced production; * $p < 0,05$ compared to to group immunized only by *Y. pestis* EV line NIIEG ($2,5 \times 10^4$ CFU).

том O1 приводила к незначительному повышению как спонтанной, так и индуцированной продукции ИФН- γ по сравнению с контрольной группой животных, иммунизированных только *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Через 3 сут после иммунизации данным иммуномодулятором наблюдали повышенный синтез противовоспалительного цитокина ИЛ-10, что коррелировало с повышением титра противочумных антител к F1 чумного микроба и может свидетельствовать об активации как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. Иммунизация препаратом O3 на 3-и сутки вызывала однократную выработку высоких концентраций провоспалительного цитокина ИФН- γ , индуцирующего клеточный иммунный ответ. Далее на 14-е сутки концентрация ИФН- γ падала, и через 21 сут различий в продукции цитокинов с контрольной группой не выявляли. Введение O2 приводило к незначительному ($p < 0,5$) повышению продукции ИФН- γ и ИЛ-10 в начальные сроки после иммунизации. Затем уровень продукции цитокинов — как спонтанной, так и индуцированной — снижался до уровней контрольной группы.

При морфологическом исследовании органов морских свинок, иммунизированных *Y. pestis* EV линии НИИЭГ в дозе 5×10^3 совместно с олигопептидами O1, O2 и O3, не выявлено грубых изменений со стороны внутренних органов. При гистологическом исследовании на фоне отсутствия признаков повреждения тканей регистрировали умеренные гиперпластические процессы в лимфоидных органах. Значимых морфологических отличий, связанных с введением исследуемых олигопептидов, у животных не наблюдали.

Обсуждение

Применяемая для специфической профилактики чумы ВЧЖ, лицензированная в России, снижает заболеваемость и обеспечивает более лёгкое течение болезни, но недостаточно эффективна в отношении лёгочной чумы и вызывает непродолжительный напряжённый иммунитет. Многолетнее комплексное иммунологическое исследование вакцинированных ВЧЖ лиц декретируемых контингентов показало индивидуальную иммунологическую эффективность вакцины, зависящую от многих факторов [2, 20]. Применение иммуномодуляторов на фоне прививки ВЧЖ — одно из реальных и перспективных направлений повышения эффективности противочумного иммунитета. Учитывая, в первую очередь, механизм действия, а также положительные результаты, полученные при использовании иммуномодулирующих препаратов в схемах лечения и профилактики как вирусных, так и бактериальных инфекций, были отобраны иммуномодуляторы, использование которых может быть эффективным для совершенствования специфической профилактики чумы.

Препарат O1, регулирующий окислительно-восстановительные процессы, обладающий иммуностимулирующим, гепатопротективным, гемопотетическим потенциалом, в наших исследованиях повышал выживаемость животных, возможно, активируя тканевые макрофаги и способствуя поглощению и гибели микроорганизмов. В данной серии экспериментов пептид показал наилучшие результаты: у интактных белых мышей при трёхкратном введении O1 регистрировали повышение показателя ЛД₅₀ штамма *Y. pestis* 231(708) в 3 раза по сравнению с контрольной группой, что коррелировало с увеличением средней продолжительности жизни павших животных опытной группы. Также при трёхкратном введении препарата O1 отмечали снижение интегрального показателя ImD₅₀ у белых мышей — в 1,2 раза, у морских свинок — в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой животных, иммунизированных только *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, что указывает на активацию протективных свойств вакцины. Повышение выживаемости животных после заражения сопровождалось ростом средней продолжительности жизни павших биомоделей (в 1,2–2,3 раза). Пептид O1 стимулировал увеличение антителопродукции, что коррелировало с ростом противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Аналогичные результаты, сопровождающиеся повышением защитного эффекта вакцинации, получены при введении с живой бруцеллезной вакциной иммуномодуляторов ликопида и тимогена [21], а также при изучении влияния азоксимера бромида на иммуногенные и протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ при экспериментальной чуме [3, 4].

Синтетический пептид O2 мобилизует и активирует клетки моноцитарно-макрофагального ряда, индукцию синтеза ИФН- α и - β , стимулирует синтез антител к различным антигенам инфекционной природы, а также влияет на содержание CD4 T- и NK-клеток в периферической крови [9, 13]. У животных, иммунизированных вакцинным штаммом чумы, трёхкратное введение O2 непосредственно перед заражением *Y. pestis* 231(708) в 1,4–2,1 раза увеличивало среднюю продолжительность жизни биомодели и пролонгировало период до манифестации заболевания, что позволяет рассматривать этот препарат особенно перспективным для экстренной профилактики чумы. Известно, что в случае чумы дополнительные 24 ч на принятие решения о назначении этиотропной терапии пациенту позволяют минимум на 50% повысить шансы на выздоровление [22].

Синтетический иммуномодулятор тимического происхождения O3 активирует поглощение лейкоцитами бактерий и их переваривание, стимулируя образование всех видов иммуноглобулинов, усиливая продукцию ИЛ-2 лимфоцитами [9, 10]. В нашем исследовании установлено потенцирующее

щее влияние ОЗ на иммуногенную и протективную активность вакцинного штамма чумного микроба при моделировании бубонной формы чумы на двух видах экспериментальных животных. Так, трёхкратное введение иммуномодулятора ОЗ перед заражением вызывало значимое снижение интегрального показателя ImD_{50} у белых мышей и морских свинок. Интересен установленный факт увеличения продукции цитокинов у иммунизированных по данной схеме животных, что сопровождалось повышением напряжённости противочумного иммунитета, происходящим даже на фоне снижения титров детектируемых антител к капсульному антигену F1 чумного микроба у белых мышей и морских свинок. Возможно, что активированные введением ОЗ цитокины участвуют в механизме ингибирования высвобождения В-клетками синтезируемых иммуноглобулинов и в перестройке иммунной системы биомоделей на клеточный тип иммунного ответа.

Отдельно необходимо отметить отсутствие при совместном введении со штаммом *Y. pestis* EV линии НИИЭГ негативного влияния олигопептидных препаратов на ткани и органы вакцинированных биомоделей, установленное с помощью морфогистологического исследования.

Заключение

Результаты комплексной оценки возможности повышения иммуногенности и протективности вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ за счёт использования различных схем применения синтетических олигопептидных иммуномодуляторов показали, что оптимальным препаратом, обеспечивающим стимуляцию клеточного звена иммунитета, повышающим иммуногенность и протективный эффект живой чумной вакцины, является глутоксим (О1). Несмотря на то что гепон (О2) положительно влиял на показатели клеточного иммунитета при сочетанном введении с *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, ожидаемого повышения защитного эффекта в опытах на белых мышках и морских свинках обнаружено не было. Применение иммунофана (ОЗ) совместно с вакцинным штаммом в сравнении с другими анализируемыми препаратами показало преимущественное избирательное влияние на Т-клеточное звено иммунитета, что и следовало с большей вероятностью ожидать от синтетического аналога тимопэтина. Не стоит забывать при работе с иммуномодуляторами, что повышение защитного эффекта иммунизации на фоне применения олигопептидов чётко зависело от выбранного типа биомодели: для белых мышей снижение ImD_{50} было более значимым, чем для морских свинок.

Таким образом, исследования по отбору и оценке эффективности иммуномодулирующих препаратов для включения в схему вакцинации против чумы открывают новые возможности фор-

мирования основы для совершенствования специфической профилактики этой инфекции в условиях многолетнего обострения эпизоотической активности на территориях природных очагов инфекции или при угрозе возникновения эпидемических осложнений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дятлов И.А., Анисимов А.П., Храмов М.В., Дунайцев И.А., Ажержачева Н.И., Сомов А.Н. Вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ). *Бактериология*. 2018; 3(1): 74–5.
2. Кудрявцева О.М, Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кожевников В.А., Щуковская Т.Н., Каштанова Т.Н. и др. Анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, вакцинированных живой чумной вакциной. *Здоровье населения и среда обитания*. 2020; (6): 17–24. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-327-6-17-24>
3. Микшис Н.И., Кутырев В.В. Современное состояние проблемы разработки вакцин для специфической профилактики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (1): 50–63. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-50-63>
4. Каральник Б.В., Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Денисова Т.Т., Мельникова Н.Н., Тугамбаев Т.И. и др. Влияние иммуномодуляции на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 91(6): 108–12.
5. Щуковская Т.Н., Курьлина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А. Влияние полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на защитное действие вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме. *Российский иммунологический журнал*. 2020; 23(1): 41–50. <https://doi.org/10.46235/1028-7221-005-ЮР>
6. Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Кудрявцева О.М., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Каштанова Т.Н. и др. Экспериментальная оценка эффективности применения вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ в сочетании с иммуномодуляторами. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (2): 71–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-2-71-77>
7. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Денисова Т.Т., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б. и др. Влияние бета-лейкина на показатели антиген-специфического иммунного ответа в модельных опытах иммунизации животных живой противочумной вакциной. *Цитокины и воспаление*. 2014; 13(1): 57–62.
8. Хаитов Р.М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность. *Иммунология*. 2020; (2): 1–6. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-2-101-106>
9. Хаитов Р.М., Атауллаханов Р.И., Шульженко А.Е. Иммуно-терапия: руководство для врачей. М.: ГЭОТАРМедиа; 2018.
10. Лебедев В.В. Иммунофан – синтетический пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения. *Иммунология*. 1999; (1): 25–30.
11. Townsend D.M., He L., Hutchens S., Garrett T.E., Pazoles C.J., Tew K.D. NOV-002, a glutathione disulfide mimetic, as a modulator of cellular redox balance. *Cancer Res*. 2008; 68(8): 2870–7. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-5957>
12. Антушевич А.А., Антонов В.Г., Гребенюк А.Н., Антушевич А.Е., Ладанова Т.В., Бурова Е.Б. Патофизиологические основы эффективности глутоксима как средства сопровождения лучевой терапии рака ротоглотки. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2013; (3): 32–7.
13. Атауллаханов Р.И., Катлинский А.В., Холмс Р.Д., Мастер-нак Т.Б., Ларин А.С., Малкина Е.Ю. и др. Усиление обра-

- зования антител под влиянием иммуномодулятора Гекона. *Иммунология*. 2003; (1): 9–12.
14. Приказ Минздравсоцразвития России № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»; 2010.
15. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.; 2010.
16. МУ 3.3.1.1113-02. Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба: методические указания. М.; 2002.
17. Клюева С.Н., Щуковская Т.Н. Влияние адъювантов нового поколения *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови вакцинированных против чумы лиц. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(2): 201–8.
18. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз; 1962.
19. Quenee L.E., Ciletti N., Berube B., Krausz T., Elli D., Hermans T., et al. Plague in Guinea pigs and its prevention by subunit vaccines. *Am. J. Pathol.* 2011; 178(4): 1689–700. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.028>
20. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И., Клюева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л. и др. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории прикаспийского песчанного очага чумы в республике Калмыкия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3): 38–50. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50>
21. Богачева Н.В., Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(2): 84–92.
22. Andersson J.A., Sha J., Kirtley M.L., Reyes E., Fitts E.C., Dann S.M., et al. Combating multidrug-resistant pathogens with host-directed nonantibiotic therapeutics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 62(1): 01943–17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01943-17>
23. Pestis EV NIEG in combination with immune-modulators. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; (2): 71–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-2-71-77> (in Russian)
24. Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Karal'nik B.V., Denisova T.G., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., et al. Betaleukin influence on antigen-specific immune response indicators in model experiments of immunizing animals with live plague vaccine. *Tsitokiny i vospalenie*. 2014; 13(1): 57–62. (in Russian)
25. Khaitov R.M. Immunomodulators: myths and reality. *Immunologiya*. 2020; (2): 1–6. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-2-101-106> (in Russian)
26. Khaitov R.M., Ataullakhanov R.I., Shul'zhenko A.E. *Immunotherapy: A Guide for Doctors [Immunoterapiya: rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. (in Russian)
27. Lebedev V.V. Imunofan – synthetic peptide preparation of a new generation: immunological and pathogenetic aspects of clinical application. *Immunologiya*. 1999; (1): 25–30. (in Russian)
28. Townsend D.M., He L., Hutchens S., Garrett T.E., Pazoles C.J., Tew K.D. NOV-002, a glutathione disulfide mimetic, as a modulator of cellular redox balance. *Cancer Res.* 2008; 68(8): 2870–7. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-5957>
29. Antushevich A.A., Antonov V.G., Grebenyuk A.N., Antushevich A.E., Ladanova T.V., Burova E.B. Pathophysiological rationale of the effectiveness of glutoxim supportive therapy add-on to radiotherapy management of oropharyngeal cancer. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2013; (3): 32–7. (in Russian)
30. Ataullakhanov P.I., Katlinskiy A.V., Kholms R.D., Master-nak T.B., Larin A.S., Malkina E.Yu., et al. The enhancement of the formation of antibodies under the influence of the gepon immune-modulator. *Immunologiya*. 2003; (1): 9–12. (in Russian)
31. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation N 708n «On Approval of the Rules for Laboratory Practice»; 2010. (in Russian)
32. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes. St. Petersburg.; 2010. (in Russian)
33. МУ 3.3.1.1113-02. The basic requirements for vaccine strains of plague Microbe: methodical instructions. Moscow; 2002. (in Russian)
34. Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N. Adjuvants influence of new generation *in vitro* cytokine production by blood cells vaccinated against plague persons. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2015; 9(2): 201–8. (in Russian)
35. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statistical Methods in Microbiological Research [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad: Medgiz; 1962. (in Russian)
36. Quenee L.E., Ciletti N., Berube B., Krausz T., Elli D., Hermans T., et al. Plague in Guinea pigs and its prevention by subunit vaccines. *Am. J. Pathol.* 2011; 178(4): 1689–700. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.028>
37. Бугоркова С.А., Шчуковская Т.Н., Микшис Н.И., Клыueva С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., et al. Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the pre-Caspian sand foci of the plague in the republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2018; 17(3): 38–50. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50> (in Russian)
38. Bogacheva N.V., Okhupkina V.Yu., Pyatkova N.V., Fedotov A.K., Kucherenko A.S. Experimental research of the influence of immunomodulators on efficiency using of brucellosis living dry vaccine. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2016; 15(2): 84–92. (in Russian)
39. Andersson J.A., Sha J., Kirtley M.L., Reyes E., Fitts E.C., Dann S.M., et al. Combating multidrug-resistant pathogens with host-directed nonantibiotic therapeutics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 62(1): 01943–17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01943-17>

REFERENCES

Информация об авторах

Гончарова Анастасия Юрьевна[✉] — к.м.н., н.с. отдела иммунологии РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Бугоркова Светлана Александровна — д.м.н., и.о. зав. отделом иммунологии РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Щуковская Татьяна Николаевна — д.м.н., профессор, г.н.с. отдела иммунологии РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8995-0895>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 05.09.2022;
принята к публикации 19.11.2022;
опубликована 13.02.2023

Information about the authors

Anastasiya Yu. Goncharova[✉] — Cand. Sci. (Med.), researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Svetlana A. Bugorkova — D. Sci. (Med.), Head, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Tatyana N. Shchukovskaya — D. Sci. (Med.), Professor, chief researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8995-0895>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 05.09.2022;
accepted for publication 19.11.2022;
published 13.02.2023

Просветительский проект к 60-летию
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора



ФБУН Центральный НИИ
Эпидемиологии
Роспотребнадзора
НАУКА НА СЛУЖБЕ ВАШЕГО ЗДОРОВЬЯ

Обучающий цикл по социально значимым инфекциям

25 января

Онлайн-семинар

Эволюция COVID-19: клинико-иммунологические аспекты, диагностика, терапевтические подходы

15-16 февраля

Онлайн-семинар

Грипп и острые респираторные инфекции: диагностика, терапия и профилактика

15 марта

Онлайн-семинар

Актуальные вопросы в работе медицинской сестры. Преаналитика, сервис, санэпидрежим

12 апреля

Онлайн-семинар

Трансмиссивные инфекции: диагностика и разбор клинических случаев

17 мая

Онлайн-семинар

Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии острых кишечных инфекций

7-8 июня

Онлайн-семинар

Современные проблемы иммунопрофилактики инфекционных болезней

6-7 сентября

Онлайн-семинар

Микробиота и антибиотикорезистентность

11 октября

Онлайн-семинар

Современные методы в эпидемиологии

15-16 ноября

Онлайн-семинар

Диагностика и лечение урогенитальных и внутриутробных инфекций

13 декабря

Онлайн-семинар

Вирусные гепатиты: эпидемиология, диагностика и современные возможности лечения

Центр научных и маркетинговых коммуникаций
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
+7 (495) 974-96-46 доб. 1076, event@cmd.su

Регистрация
участников:





Оценка гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников крупного специализированного стационара

Мурзина А.А.^{1✉}, Борисова О.В.¹, Кальнин И.Б.², Медведева Е.А.³, Марьин Г.Г.³, Каира А.Н.¹

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

²Психиатрическая больница им. В.И. Яковенко, пос. Мещерское, Московская область, Россия;

³Российская академия наук, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Наличие специфических IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 и их концентрация позволяют рассчитать напряжённость иммунитета к COVID-19, т.е. определить уровень восприимчивости к инфекции, риск инфицирования, тяжесть течения заболевания, а также способность предотвратить летальный исход. В то же время не доказано, какие уровни антител являются защитными. Поэтому определение характера иммунитета и оценка уровня IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 позволяет влиять на эффективность проводимых профилактических мероприятий и своевременно их корректировать.

Цель работы — определить наличие IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2, их уровня и характера гуморального иммунитета у сотрудников стационара закрытого типа в разных возрастных и профессиональных группах после завершённой вакцинации «Гам-КОВИД-Вак».

Материалы и методы. Проведено исследование сывороток крови 310 медицинских сотрудников, получивших полный курс иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак» с применением набора реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-IgG» по ТУ 21.20.23-004-28597318-2020, РУ № РЗН 2021/15898. Количественное определение IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 проводили в соответствии со стандартом ВОЗ NIBSC 20/136.

Результаты. Специфические IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 обнаружены у 92,9% обследованных лиц, в том числе 67,4% составили лица с гибридным иммунитетом, 25,5% — с поствакцинальным иммунитетом после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак», 7,1% — неиммунные. Более высокий уровень IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 выявлен в группе лиц с гибридным иммунитетом ($p < 0,01$). Защитный уровень антител более 300 БАУ/мл имели только 11,6% сотрудников.

Обсуждение. Больше всего сотрудников с гибридным иммунитетом выявлено в старших возрастных категориях и в категории младшего медицинского персонала. Полученные результаты серологического исследования с учётом возрастных и профессиональных аспектов могут служить основой для корректировки профилактических мероприятий в медицинских учреждениях.

Ключевые слова: антитела, медицинские работники, Spike SARS-CoV-2, вакцинация, эпидемиология, иммунитет, гибридный, вакцина «Гам-КОВИД-Вак»

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (протокол № 9 от 09.12.2022).

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

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

Для цитирования: Мурзина А.А., Борисова О.В., Кальнин И.Б., Каира А.Н. Оценка гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников крупного специализированного стационара. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):95–102.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-254>

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-254>

Assessment of humoral immunity to SARS-CoV-2 by a sample examination of medical workers in a large specialized multidisciplinary hospital

Alyona A. Murzina^{1✉}, Olga V. Borisova¹, Igor B. Kalnin², Evgenia A. Medvedeva³, German G. Marin³, Alla N. Kaira¹

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

²Psychiatric Hospital named after V.I. Yakovenko, Meshcherskoe, Moscow region, Russia;

³Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Annotation

Introduction. The assessment of specific IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 and their quantitation permit to calculate the intensity of immunity to COVID-19, i.e. to determine the level of immunity to infection, the risk of infection, the severity of the disease, as well as the ability to prevent death. Meanwhile, the protective level of antibodies is not determined. Therefore, determining the nature of immunity and quantitation of IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 make it possible to assess the effectiveness of preventive measures and correct them in a timely manner.

The aim is to determine the presence of IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2, their concentrations, and the nature of humoral immunity in different age and occupational groups of employees in a closed-type hospital after the completed vaccination with "Gam-Covid-Vac" vaccine.

Materials and methods. The blood sera of 310 members of medical staff who received a full course of immunization with the "Gam-Covid-Vac" vaccine were tested using "SARS-CoV-2-ELISA-IgG" kit according to instructions provided in 21.20.23-004-28597318-2020, RU No. RZN 2021/15898. IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 were quantitated against WHO standard NIBSC 20/136.

Results. Specific IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 were found in 92.9% of the examined individuals, including 67.4% having hybrid immunity (both vaccine- and infection- induced), and 25.5% having post-vaccination immunity after immunization with the "Gam-Covid-Vac" vaccine; 7.1% participants were nonimmune. A higher level of IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 was detected in the group of individuals with hybrid immunity ($p < 0.01$). Only 11.6% of employees had a protective antibody level of more than 300 BAU/ml.

Discussion. Most employees with hybrid immunity were identified in the older age groups and in the junior medical staff. The results of this serological study, taking into account the age and professional aspects, can serve as the basis for adjusting preventive measures in medical institutions.

Keywords: antibodies, medical workers, Spike SARS-CoV-2, vaccination, epidemiology, immunity, hybrid, vaccine "Gam-COVID-Vac"

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Ser (protocol No. 9, December 9, 2022).

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

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

For citation: Murzina A.A., Borisova O.V., Kalnin I.B., Kaira A.N. Assessment of humoral immunity to SARS-CoV-2 by a sample examination of medical workers in a large specialized multidisciplinary hospital. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):95–102. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-254>

Введение

Пандемия COVID-19 остаётся одной из главных мировых проблем. Ежедневно регистрируются сотни тысяч заболевших в день, погибли более 6 млн человек¹. Среди всех групп населения, вовлечённых в эпидемический процесс, особого внимания заслуживают медицинские работники, ко-

торые чаще других контактируют с источниками коронавирусной инфекции, подвергаясь массивной вирусной атаке². По данным ВОЗ, в мире только в 2021 г. от COVID-19 умерли 115 тыс. медицинских работников³. Однако это далеко не полные данные,

¹ Coronavirus Monitorus. Онлайн-карта распространения коронавируса COVID-19. URL: <https://coronavirus-monitorus.ru/#stat>

² 35МЕДИА. Ковид-19: самые «болеющие» профессии. URL: <https://35media.ru/articles/2020/11/17/kovid-19-samyebolyushhie-professii>

³ WHO. The impact of COVID-19 on health and care workers: a closer look at deaths. Electronic resource. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HWF-WorkingPaper-2021.1>

т.к. по результатам проводимых сероэпидемиологических исследований популяционного иммунитета, прежде всего, по наличию IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2, известно, что эпидемический процесс SARS-CoV-2 гораздо интенсивнее, чем характеризующие его официальные данные о заболеваемости. За время борьбы с пандемией многие сотрудники лечебных учреждений успели приобрести естественный иммунитет⁴, сформировавшийся после заболевания, перенесённого не только в клинически выраженной, но и в малосимптомной стёртой форме [1].

Вирусная угроза SARS-CoV-2 сохраняется. Однако в скором времени важную роль будет играть иммунологический фактор течения пандемии, сформированный в том числе посредством вакцинации. К настоящему времени стало известно, что эффективность вакцин против COVID-19 со временем ослабевает, а это требует проведения дополнительных курсов вакцинации [2, 3]. Вопросы наличия антител и их защитных уровней как после вакцинации, так и после перенесённого заболевания остаются дискуссионными и требуют дополнительного изучения [4, 5].

Целью нашего исследования явилось определение наличия IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2, их уровня и характера иммунитета у сотрудников стационара закрытого типа в разных возрастных и профессиональных группах после завершённой вакцинации «Гам-КОВИД-Вак».

Материалы и методы

В исследование были включены сыворотки крови 310 сотрудников, что составило 24,1% работающих в крупном специализированном многопрофильном психиатрическом стационаре закрытого типа — Психиатрической больнице им. В.И. Яковенко. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (протокол № 9 от 09.12.2022).

Биологический материал был отобран в период с сентября 2021 г. по октябрь 2021 г. На момент проведения исследования, согласно официальным статистическим данным, все сотрудники были привиты двукратно вакциной «Гам-КОВИД-Вак» в период с марта 2021 г. по сентябрь 2021 г. Была разработана анкета для получения сведений о вакцинации, дате введения второго компонента, дате рождения, должности, отделении, стаже, а также сведений об официально подтверждённом перене-

сённом заболевании и ранее проведённых исследованиях по определению IgM- и IgG-антител к антигену SARS-CoV-2 в сыворотке крови (на базе лаборатории Морозовской ДГКБ, РУ 2020/10177).

С целью проведения анализа по профессиональному и возрастному признакам все обследованные сотрудники были разделены на следующие группы: врачи, средний медицинский персонал, младший медицинский персонал, администрация, прочие; по возрасту: 20–29, 30–39, 40–49, 50–59 и 60+ лет.

Определение IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 проводили с использованием Набора реагентов для качественного иммуноферментного определения IgG-антител к SARS-CoV-2 в сыворотке или плазме крови человека «SARS-CoV-2-ИФА-IgG», («МедипалТех», Россия) по ТУ 21.20.23-004-28597318-2020, РЗН 2021/15898 от 30.11.2021. Для количественного определения антител применяли калибраторы, представляющие собой последовательные разведения стандартного образца ВОЗ (NIBSC code: 20/136).

Определение IgG к Nucleoprotein SARS-CoV-2 проводили следующим образом в лунки планшета (иммуносорбента) с иммобилизованным рекомбинантным антигеном Nucleoprotein SARS-CoV-2 вносили образцы сывороток в разведении 1 : 100 в 0,02 М фосфатном буферном растворе pH 7,2, содержащем 0,2% бычьего сывороточного альбумина, 0,05% Твин 20. После инкубирования в течение 30 мин и отмывки вносили по 100 мкл моноклональных антител к IgG человека, конъюгированных с пероксидазой хрена в разведении 1 : 15 000–1 : 40 000. Повторяли этап инкубирования и вносили по 100 мкл 33 мМ цитратного буферного раствора pH 4,0, содержащего 0,01% перекиси водорода и 0,5 мМ 3,3',5,5'-тетраметилбензидина. Через 15 мин реакцию останавливали добавлением 100 мкл 2N серной кислоты, измеряли оптическую плотность (ОП) в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 680 нм.

Порог отсекаемых положительных образцов от отрицательных оценивали путём сравнения значений индексов позитивности (ИП) анализируемых сывороток:

$$\text{ИП} = \frac{\text{ОП}_0}{\text{ОП}_\text{п}},$$
$$\text{ОП}_\text{п} = \text{ОП}_\text{кр} + 3\sigma,$$

где ОП₀ — ОП образца, ОП_п — ОП пороговая, ОП_{кр} — среднее арифметическое значение регистрируемого сигнала для выборки сывороток крови пациентов, полученных до ноября 2019 г. Результат анализа считали положительным при ИП ≥ 1,1, отрицательным — при ИП < 0,9, неопределённым — при 0,9 ≤ ИП < 1,1.

Для установления характера иммунитета были использованы данные анамнеза пациентов и

⁴ NIPH. COVID-19-EPIDEMIC: Immunity after SARS-CoV-2 infection — a rapid review. URL: <https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2020/immunity-after-sars-cov-2-infection-1st-update-report-2020.pdf>

результаты исследования на наличие IgG-антител к нуклеокапсидному (NC) белку SARS-CoV-2. Поскольку антитела к NC-белку могли образоваться только после перенесённой инфекции, эти исследования позволили выявить наличие специфического гибридного иммунного ответа к COVID-19, сформированного как после вакцинации «Гам-КОВИД-Вак», так и после перенесённого заболевания — бессимптомного или малосимптомного.

В соответствии с полученными данными все сотрудники учреждения были разделены на три группы:

- 1-я группа — гибридный иммунитет — IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 в результате проведённой вакцинации и перенесённого заболевания COVID-19 (также были обнаружены IgG-антитела к NC SARS-CoV-2);
- 2-я группа — поствакцинальный иммунитет — IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 после вакцинации «Гам-КОВИД-Вак»;
- 3-я группа — IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 отсутствовали.

Проведены расчёты средних геометрических уровней антител и 95% доверительных интервалов (ДИ) по методу Клоппера–Пирсона⁵.

Для оценки достоверности различий применяли t-критерий Стьюдента, для сравнения уровня выявленных антител в группах пациентов — критерий Манна–Уитни. Использовано программное обеспе-

чение «Origin 2019b» («OriginLab Corporation») и «Microsoft Office Excel 2019» («Microsoft»).

Результаты

По результатам исследования сывороток на IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 установлено, что из 310 обследованных сотрудников специализированного стационара, привитых 2 дозами против COVID-19 вакциной «Гам-КОВИД-Вак», антитела были обнаружены у 288 (92,9%). У 22 (7,1%) обследованных привитых антитела были менее 13 ВАУ/мл, что интерпретируется как отсутствие специфического иммунного ответа у этих сотрудников, медианное время после вакцинации составило 93 дня.

Определено, что 67,4% (95% ДИ 61,9–72,6%) составляют лица с гибридным иммунитетом, 25,5% (95% ДИ 20,7–30,7%) — лица с поствакцинальным иммунитетом после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак», 7,1% (95% ДИ 4,5–10,6%) — неиммунные. Разность между лицами с гибридным и поствакцинальным иммунитетом достоверная ($t > 2$).

Во всех профессиональных группах выявлялись лица с разными видами иммунитета: гибридным, поствакцинальным и с отсутствием IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2. При этом удельный вес лиц с гибридным иммунитетом также превалировал во всех профессиональных категориях, находясь в пределах от 76,1% (максималь-

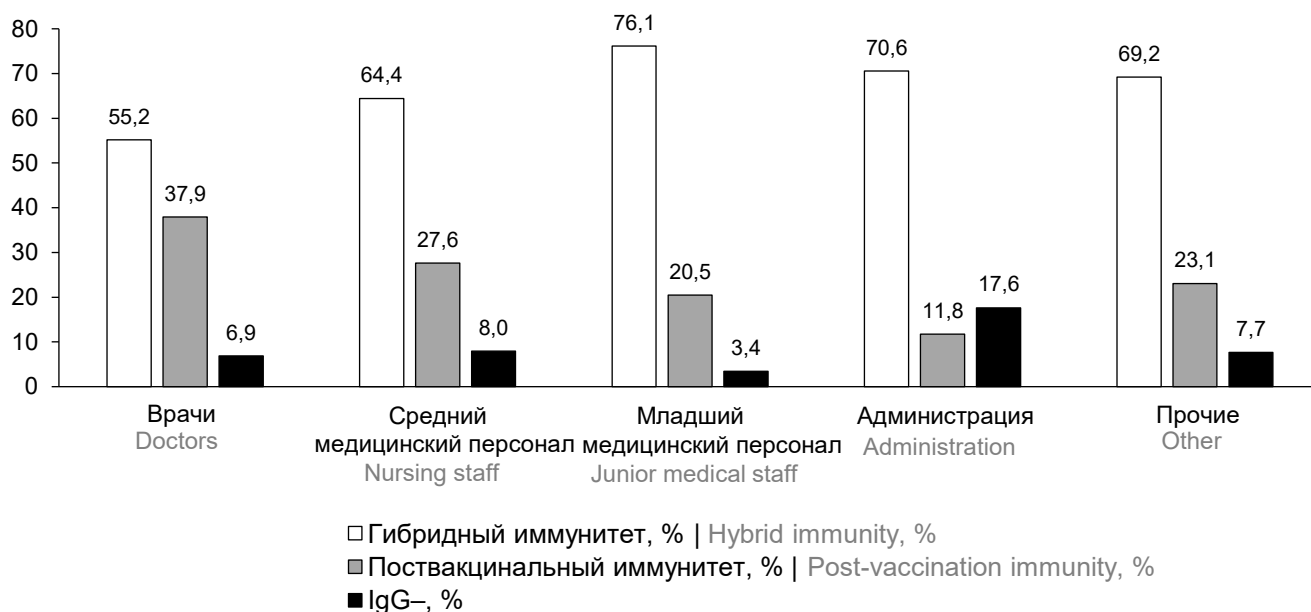


Рис. 1. Сравнительные данные по видам иммунитета в различных профессиональных группах.

Fig. 1. Comparative data on types of immunity in various occupational groups.

⁵ Калькулятор доверительного интервала биномиальной вероятности.
URL: <https://www.danielsoper.com/statcalc/calculator.aspx?id=85>

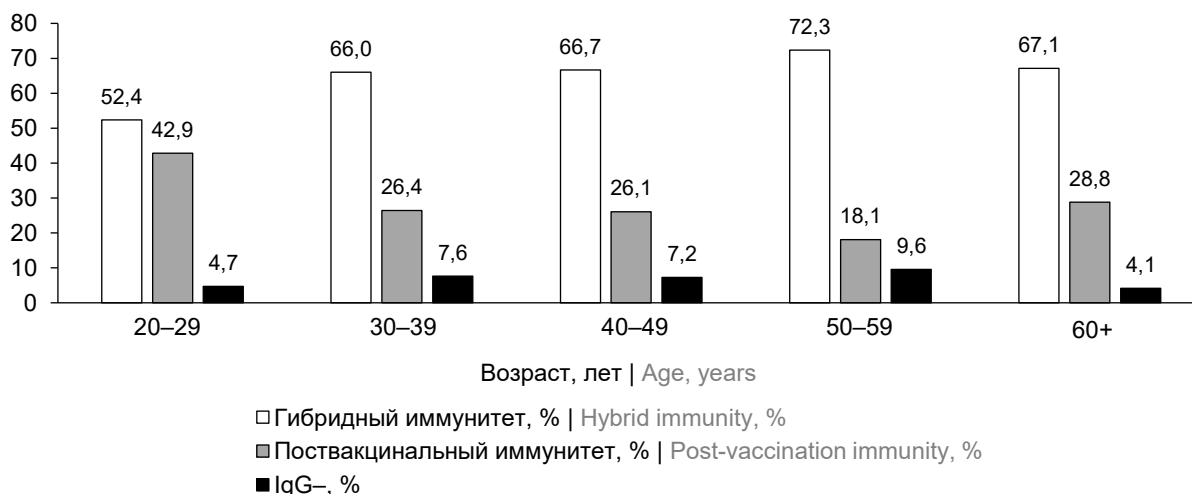


Рис. 2. Сравнительные данные по видам иммунитета в различных возрастных группах.
Fig. 2. Comparative data on types of immunity in different age groups.

ный уровень среди младшего обслуживающего персонала) до 55,2% (минимальный уровень среди врачей; **рис. 1**).

У сотрудников с поствакцинальным иммунитетом наибольший удельный вес иммунных был отмечен среди врачей (37,9%), затем среднего медицинского персонала, прочего, младшего, администрации (**рис. 1**).

Важно подчеркнуть, что во всех профессиональных группах определялись лица, не имеющие IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2. Больше всего таких сотрудников было среди представителей администрации (17,6%) и только 3,4% — среди младшего медицинского персонала (**рис. 1**).

Во всех возрастных группах преобладали лица с наличием гибридного иммунитета. Наиболее высокий удельный вес сотрудников с таким видом иммунитета отмечен в возрастной группе 50–59 лет (72,3%), далее следовала возрастная категория 60 лет и старше, 40–49, 30–39 и 20–29 лет (**рис. 2**). Среди лиц с поствакцинальным иммунитетом наибольший удельный вес лиц с наличием IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 отмечен в возрастной группе 20–29 лет (42,9%), самый низ-

кий — среди лиц 50–59 лет (18,1%). Сотрудники с серонегативными результатами встречались во всех возрастных группах, наибольший удельный вес таких лиц отмечен в возрастной группе 50–59 лет (9,6%).

Количественная оценка уровня специфических антител всей когорты обследованных медицинских сотрудников показала, что уровень IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 150–300 BAU/мл был выявлен у 41,9% медицинских работников, IgG к RBD Spike SARS-CoV-2 от 13–150 BAU/мл — у 39,4%, более 300 BAU/мл — у 11,6%, оставшиеся 7,1% сотрудников имели IgG к RBD Spike SARS-CoV-2 менее 13 BAU/мл.

При расчёте средней геометрической количественного титра IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 у лиц с гибридным иммунитетом оказалась выше (162,4 BAU/мл), чем у лиц с поствакцинальным иммунитетом (104,5 BAU/мл).

При сравнительной количественной оценке уровней антител у лиц с гибридным и с поствакцинальным иммунитетом установлено что более высокий уровень IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 ($p < 0,01$) был в группе медработников с ги-

Результаты количественного определения уровня IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 в соответствии со стандартом ВОЗ NIBSC 20/136

Results of quantitation of IgG antibodies to RBD Spike SARS-CoV-2 against the WHO standard NIBSC 20/136

IgG-антитела, BAU/мл IgG antibodies, BAU/ml	Всего, абс. (%) Total, abs. (%)	В том числе с гибридным иммунитетом, % (95% ДИ) Including hybrid immunity, % (95% CI)	В том числе с поствакцинальным иммунитетом, % (95% ДИ) Including post-vaccination immunity, % (95% CI)
<13	22 (7,1%)	—	—
13–150	124	62,9 (53,8–71,4)	37,1 (28,6–46,2)
150–300	128	77,3 (69,1–84,3)	22,7 (15,7–30,9)
>300	36	88,9 (73,9–96,9)	11,1 (3,1–26,1)
Итого Total	310	67,4 (61,9–72,6)	25,5 (20,7–30,7)

бридным иммунитетом. При этом в когорте с уровнем антител >300 ВАУ/мл 88,9% составили сотрудники с гибридным иммунитетом, а 11,8% — лица с поствакцинальным иммунитетом. Среди всех привитых у 7,1% лиц уровень антител составил менее 13 ВАУ/мл (таблица).

В соответствии с критерием Манна–Уитни более высокий уровень антител выявлен у младшего и старшего медицинского персонала с гибридным иммунитетом ($p = 0,05$). Между остальными группами достоверной разницы не обнаружено, возможно, в связи с небольшим количеством пациентов в ряде групп.

IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 в сроки до 3 мес определялись у 62,8% сотрудников, от 3 до 6 мес — у 25% и от 6 мес — у 12,2%.

Обсуждение

На сегодняшний день работ по изучению иммунитета после проведённой иммунизации, перенесённого заболевания или и того и другого недостаточно, а систематические обзоры практически отсутствуют. Проведённая нами работа позволяет дать некоторую оценку гуморального иммунитета полностью привитых медицинских работников. Имеющиеся данные по исследованию иммунитета среди медицинских работников характеризуются вариабельностью значений в зависимости от сроков вакцинации, даты заболевания, тяжести течения и ряда других причин. Например, в Москве до проведения массовой вакцинации IgG-антитела к вирусу SARS-CoV-2 обнаруживались у 22,1% медицинских работников, в Казани — у 16,4%, в Санкт-Петербурге — у 27,1%, что было обусловлено исключительно наличием постинфекционного иммунитета [6, 7]. По данным зарубежных исследований, в 2020–2021 гг. распространённость IgG-антител к SARS-CoV-2 составила 12,4% в США, 7,7% в Европе, 4,8% в Восточной Азии. В более поздних работах, проводимых в России, удельный вес медицинских работников с наличием IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV после вакцинации и перенесённого заболевания увеличился и составил 82,6% в Архангельской области и 99,4% на Среднем Урале [8, 9].

В нашем исследовании доля медицинских сотрудников с IgG-антителами к RBD Spike SARS-CoV-2, сформировавшимися как после вакцинации «Гам-КОВИД-Вак», так и в результате перенесённого заболевания, составила 92,9% и только у 7,1% отсутствовал специфический иммунный ответ. Установлено также, что 67,4% сотрудников имеют специфические IgG-антитела к NC-белку, что указывает на приобретение их в результате встречи с «диким» вирусом и возможностью перенести заболевание COVID-19 в малосимптомной или бессимптомной форме, в то время как анамнестические данные свидетельствовали о перенесённом ранее

заболевании только у 15,8% сотрудников, участвующих в исследовании. Наши результаты также указывают на то, что среди обследованных превалирует доля лиц с гибридным иммунитетом — 67,4% (95% ДИ 62,18–72,62%) против 25,5% (95% ДИ 20,65–30,35%) у только вакцинированных.

Больше всего нами было выявлено сотрудников с гибридным иммунитетом в категории младшего медицинского персонала, что, возможно, связано с более близкими и более длительными контактами при уходе за пациентами и неполным соблюдением ими санитарно-противоэпидемического режима. Среди врачебного персонала гораздо ниже, чем среди других категорий персонала, удельный вес лиц с гибридным иммунитетом и выше удельный вес лиц, привитых против SARS-CoV-2, что указывает на значительно меньшие контакты с пациентами, более высокие ответственность, грамотность и настороженность лиц этой категории.

Мы также выявили, что в старших возрастных категориях (50–59 и 60+ лет) удельный вес лиц с гибридным иммунитетом (IgG к RBD Spike SARS-CoV-2 и IgG к NC-белку) превалировал и составлял 72,3 и 67,1% соответственно, что совпадает с данными официальной статистики по заболеваемости COVID-19. По итогам 2021 г. в возрастных группах старше 50 лет удельный вес заболевших составил 44% [10]. С поствакцинальным иммунитетом более высокий удельный вес лиц с наличием IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 был отмечен среди лиц 20–29 лет (42,9%). По зарубежным данным, в США более высокая распространённость IgG-антител среди медицинских работников отмечена у лиц младше 40 лет, в Европе и Восточной Азии — среди медицинских работников старшего возраста, у лиц в возрасте 18–29 лет выявлен максимальный показатель серопозитивных результатов (21,0%), в группе 60–69 лет — 18,2%, 35–54 лет — 54,5% [11–13].

Известно, что около 10% населения не вырабатывают антитела, что может быть связано с особенностями иммунной системы или другими причинами. В проведённом нами исследовании 7,1% медицинских работников оказались неиммунными. Наибольший удельный вес таких лиц отмечен среди администрации (17,6%) и среди лиц в возрасте 50–59 лет (9,6%), часть из которых также были представителями администрации. Полученные результаты требуют дополнительного изучения.

В ходе исследования получены данные о количестве на уровне IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2. Удельный вес сотрудников с защитными уровнями антител 300 ВАУ/мл и более составил только 11,6% из всех обследованных, доля лиц с гибридным иммунитетом превалировала над теми, кто имел такие же уровни после проведённой иммунизации (10,3% против 1,3%). Однако на сегодняшний день не известно, как долго сохраняются антитела

после курса вакцинации и ревакцинации, а также после перенесённого заболевания и каков должен быть их защитный уровень, т.к. общепринятого уровня антител, необходимого для защиты, на данный момент не существует. Иммуный ответ на инфекцию у разных людей оказывается весьма вариабельным. По данным S. Feng и соавт., защитным является уровень IgG-антител не менее 300 ВАУ/мл [14]. Необходимо отметить, что после вакцинации против SARS-CoV-2 длительность циркуляции IgG-антител неодинакова и во многом зависит от индивидуальных особенностей организма. В нашем исследовании IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 в большем проценте случаев выявлялись на более ранних сроках от начала вакцинации: до 3 мес — у 62,8%, 3–6 мес — у 25%, от 6 мес — у 12,2%. Похожие данные получены другими исследователями, определявшими сохранение напряженного поствакцинального иммунитета не менее 6 мес [15].

Полученные результаты серологического исследования с учётом возрастных и профессиональных аспектов могут служить основой для корректировки профилактических мероприятий в медицинских учреждениях.

Выводы

1. Специфические IgG-антитела к RBD Spike SARS-CoV-2 обнаружены у 92,9% обследованных лиц.
2. Установлено, что 67,4% составляют лица с гибридным иммунитетом, 25,5% — лица с поствакцинальным иммунитетом после иммунизации вакциной «Гам-КОВИД-Вак», 7,1% — неиммунные.
3. Доля лиц с гибридным иммунитетом превалировала среди профессиональных групп среднего медицинского персонала, младшего, административного и прочего персонала, а также возрастных групп 30–39, 40–49, 50–59 и 60+ лет.
4. Более высокий уровень IgG-антител к RBD Spike SARS-CoV-2 выявлен в группе лиц с гибридным иммунитетом ($p < 0,01$).
5. Защитный уровень антител более 300 ВАУ/мл имели только 11,6% сотрудников.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sethuraman N., Jeremiah S.S., Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020; 323(22): 2249–51. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
2. Shenai M.B., Rahme R., Noorchashm H. Equivalency of protection from natural immunity in COVID-19 recovered versus fully vaccinated persons: a systematic review and pooled analysis. *Cureus*. 2021; 13(10): e19102. <https://doi.org/10.7759/cureus.19102>
3. Lumley S.F., Wei J., O'Donnell D., Stoesser N.E., Matthews P.C., Howarth A., et al. The duration, dynamics, and determinants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-

- CoV-2) antibody responses in individual healthcare workers. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 73(3): e699–709. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab004>
4. Минздрав РФ. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Версия 11». М.; 2021.
5. Sachs J.D., Karim S.S.A., Akinin L., Allen J., Brosbøl K., Colombo F., et al. The Lancet Commission on lessons for the future from the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2022; 400(10359): 1224–80. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01585-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01585-9)
6. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Андреева Е.Е., Комбарова С.Ю., Алешкин А.В. и др. Серопревалентность к вирусу SARS-CoV-2 среди медицинских работников г. Москвы в апреле–декабре 2020 года. *Инфекционные болезни*. 2021; 19(3): 5–13. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2021-3-5-13>
7. Решетникова И.Д., Агафонова Е.В., Тюрин Ю.А., Куликов С.Н., Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В. и др. Опыт изучения коллективного и персонального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; (2): 123–40. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-2-123-130>
8. Самодова О.В., Кригер Е.А., Рогушина Н.Л. Оценка гуморального иммунитета к некоторым вакциноконтролируемым инфекциям у медицинских работников инфекционных стационаров. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(4): 37–47. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-4-37-47>
9. Платонова Т.А., Голубкова А.А., Складар М.С., Карбовничакая Е.А., Смирнова С.С. К вопросу оценки эффективности вакцинации сотрудников медицинских организаций против COVID-19. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(1): 61–6. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-1-61-66>
10. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году». М.; 2022.
11. Агафонова Е.В., Куликов С.Н., Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В. и др. Результаты исследования серопревалентности к SARS-CoV-2 у медицинских работников: возрастные и профессиональные аспекты. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20(2): 49–57. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-49-57>
12. Balou H.A., Yaghubi Kalurazi T., Joukar F., Hassanipour S., Shenagari M., Khoshsorour M., et al. High seroprevalence of SARS-CoV-2 (COVID-19)-specific antibodies among healthcare workers: A cross-sectional study in Guilan, Iran. *J. Environ. Public Health*. 2021; 2021: 9081491. <https://doi.org/10.1155/2021/9081491>
13. Hossain A., Nasrullah S.M., Tasnim Z., Hasan M.K., Hasan M.M. Seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies among health care workers prior to vaccine administration in Europe, the USA and East Asia: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 2021; 33: 100770. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100770>
14. Feng S., Phillips D.J., White T., Sayal H., Aley P.K., Bibi S., et al. Correlates of protection against symptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat. Med.* 2021; 27(11): 2032–40. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01540-1>
15. Андреев И.В., Нечай К.О., Андреев А.И., Зубарёва А.П., Есаулова Д.Р., Аленова А.М. и др. Поствакцинальный и постинфекционный гуморальный иммунный ответ на инфекцию SARS-CoV-2. *Иммунология*. 2022; 43(1): 18–32. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-1-18-32>

REFERENCES

- Sethuraman N., Jeremiah S.S., Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020; 323(22): 2249–51. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
- Shenai M.B., Rahme R., Noorchashm H. Equivalency of protection from natural immunity in COVID-19 recovered versus fully vaccinated persons: a systematic review and pooled analysis. *Cureus*. 2021; 13(10): e19102. <https://doi.org/10.7759/cureus.19102>
- Lumley S.F., Wei J., O'Donnell D., Stoesser N.E., Matthews P.C., Howarth A., et al. The duration, dynamics, and determinants of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibody responses in individual healthcare workers. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 73(3): e699–709. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab004>
- The Ministry of Health of the Russian Federation. Temporary guidelines «Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) Version 11». Moscow; 2021. (in Russian)
- Sachs J.D., Karim S.S.A., Akin L., Allen J., Brosbøl K., Colombo F., et al. The Lancet Commission on lessons for the future from the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2022; 400(10359): 1224–80. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01585-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01585-9)
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Andreeva E.E., Kombarova S.Yu., Aleshkin A.V., et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies among healthcare professionals in Moscow in April-December 2020. *Infektsionnye bolezni*. 2021; 19(3): 5–13. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2021-3-5-13> (in Russian)
- Reshetnikova I.D., Agafonova E.V., Tyurin Yu.A., Kulikov S.N., Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., et al. Experience in studying herd and individual immunity to the SARS-CoV-2 virus in medical workers. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2021; (2): 123–40. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-2-123-130> (in Russian)
- Samodova O.V., Kriger E.A., Rogushina N.L. Assessment of humoral immunity to certain vaccine-controlled infections in medical workers of infectious hospitals. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2022; 21(4): 37–47. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-4-37-47> (in Russian)
- Platonova T.A., Golubkova A.A., Sklyar M.S., Karbovnichaya E.A., Smirnova S.S. On the issue of evaluating the effectiveness of vaccination of employees of medical organizations against COVID-19. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2022; 21(1): 61–66. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-1-61-66> (in Russian)
- State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2021». Moscow; 2022. (in Russian)
- Agafonova E.V., Kulikov S.N., Reshetnikova I.D., Tyurin Yu.A., Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., et al. Seroprevalence study results to SARS-CoV-2 in healthcare workers: age and professional aspects. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2021; 20(2): 49–57. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-49-57> (in Russian)
- Balou H.A., Yaghubi Kalurazi T., Joukar F., Hassanipour S., Shenagari M., Khoshsorour M., et al. High seroprevalence of SARS-CoV-2 (COVID-19)-specific antibodies among healthcare workers: A cross-sectional study in Guilan, Iran. *J. Environ. Public Health*. 2021; 2021: 9081491. <https://doi.org/10.1155/2021/9081491>
- Hossain A., Nasrullah S.M., Tasnim Z., Hasan M.K., Hasan M.M. Seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies among health care workers prior to vaccine administration in Europe, the USA and East Asia: A systematic review and meta-analysis. *EclinicalMedicine*. 2021; 33: 100770. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100770>
- Feng S., Phillips D.J., White T., Sayal H., Aley P.K., Bibi S., et al. Correlates of protection against symptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat. Med.* 2021; 27(11): 2032–40. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01540-1>
- Andreev I.V., Nechai K.O., Andreev A.I., Zubareva A.P., Esaulova D.R., Alyonova A.M., et al. Post-vaccination and post-infectious humoral immune response to SARS-CoV-2 infection. *Immunology*. 2022; 43 (1): 18–32. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-1-18-32>

Информация об авторах

Мурзина Алёна Андреевна[✉] — м.н.с., НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, alena_11_08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9029-9613>

Борисова Ольга Васильевна — к.х.н., зав. лаб. медицинской биотехнологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7664-2945>

Кальнин Игорь Борисович — к.м.н., госпитальный эпидемиолог, Психиатрическая больница им. В.И. Яковенко, пос. Мещерское, Московская обл., Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8807-8245>

Медведева Евгения Александровна — к.м.н., главный специалист Отдела медицинских наук РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7786-3777>

Марьин Герман Геннадьевич — д.м.н., зам. академика-секретаря по научно-организационной работе Отдела медицинских наук РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2179-8421>

Каира Алла Николаевна — д.м.н., зав. лаб. эпидемиологического анализа и мониторинга за инфекционными заболеваниями НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9378-6414>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 06.08.2022;
принята к публикации 10.10.2022;
опубликована 14.02.2022

Information about the authors

Alyona A. Murzina[✉] — junior researcher, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, alena_11_08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9029-9613>

Olga V. Borisova — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of medical biotechnology, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7664-2945>

Igor B. Kalnin — Cand. Sci. (Med.), Hospital epidemiologist, V.I. Yakovenko Psychiatric Hospital, Meshcherskoe, Moscow region, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8807-8245>

Evgenia A. Medvedeva — Cand. Sci. (Med.), Chief Specialist, Department of Medical Sciences of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7786-3777>

German G. Marin — D. Sci. (Med.), Professor, deputy Academician-Secretary for Scientific and Organizational Work, Department of Medical Sciences of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2179-8421>

Alla N. Kaira — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory for epidemiological analysis and monitoring of infectious diseases, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Professor, Department of epidemiology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9378-6414>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 06.08.2022;
accepted for publication 10.10.2022;
published 14.02.2022



Исследование противовирусной активности водорастворимого меланина из аптечной чаги (*Inonotus obliquus*) в отношении вируса гриппа А субтипов H5N1, H3N2 и H1N1pdm09 в экспериментах *in vitro*

Филиппова Е.И., Макаревич Е.В., Проценко М.А.✉, Мазурков О.Ю.,
Теплякова Т.В., Мазуркова Н.А.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Россия

Аннотация

Актуальность. Вирус гриппа А является причиной возникновения эпидемий и пандемий, наносящих колоссальный вред здоровью и социально-экономическому положению населения. В связи с необходимостью разработки новых методов этиотропной терапии, а также с возрастающей способностью вирусов противодействовать применяемым препаратам поиск новых фармакологически активных веществ и последующее изучение их лекарственных свойств обладает неоспоримой актуальностью.

Цель — изучение противовирусных свойств меланина, полученного из аптечной чаги (*Inonotus obliquus*), в отношении разных субтипов вируса гриппа.

Материалы и методы. Образец водорастворимого меланина *Inonotus obliquus*, полученный методом щелочного гидролиза и высушенный при 40°C, был исследован на токсичность и противовирусную активность. В качестве референс-препарата использован коммерческий противогриппозный препарат Тамифлю®. Статистическая обработка полученных данных проведена по методу Спирмена–Кербера.

Результаты. Для культуры клеток MDCK были установлены маркеры токсичности меланина из чаги (образец 20–24), такие как максимально переносимая концентрация, составляющая 237 мкг/мл, а также 50% цитотоксическая концентрация (ЦТД₅₀), равная 153,45 мкг/мл. Под действием исследуемого образца в отношении субтипов вируса гриппа А H5N1, H3N2 и H1N1pdm09 обнаружено снижение инфекционности вируса гриппа на 2,5–3,5 Ig, а также установлены 50% эффективные дозы (ЭД₅₀), составляющие 1,55–9,52 мкг/мл. На основании полученных значений ЦТД₅₀ и ЭД₅₀ были рассчитаны химиотерапевтические индексы образца, характеризующие его перспективность для дальнейших исследований.

Заключение. Меланин, полученный из аптечной чаги, проявил наибольшую активность против штамма пандемического вируса гриппа человека A/California/04/2009 (H1N1)pdm09, вызывал снижение его инфекционности на 3,5 Ig и обладал ЭД₅₀, равной 1,6 мкг/мл. Полученные результаты указывают на перспективность создания противовирусного препарата на основе меланинов из чаги в отношении вируса гриппа.

Ключевые слова: меланин, агарикомицеты, противовирусное средство, вирус гриппа А

Источник финансирования. Статья подготовлена в рамках выполнения государственного задания ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.

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

Для цитирования: Филиппова Е.И., Макаревич Е.В., Проценко М.А., Мазурков О.Ю., Теплякова Т.В., Мазуркова Н.А. Исследование противовирусной активности водорастворимого меланина из аптечной чаги (*Inonotus obliquus*) в отношении вируса гриппа А субтипов H5N1, H3N2 и H1N1pdm09 в экспериментах *in vitro*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):103–109.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-316>

Original Study Article

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-316>

Research on the antiviral activity of water-soluble melanin from the pharmaceutical chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) against influenza A virus subtypes H5N1, H3N2 and H1N1pdm09 in experiments *in vitro*

Ekaterina I. Filippova, Elena V. Makarevich, Maria A. Protsenko[✉], Oleg Yu. Mazurkov, Tamara V. Teplyakova, Natalya A. Mazurkova

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia

Abstract

Introduction. Influenza A virus is the cause of epidemics and pandemics that severely affect the health and socioeconomic status of the world's population. The need to develop new methods of etiotropic therapy, and the increasing ability of viruses to counteract the antiviral drugs makes extremely relevant the search for new pharmacologically active substances and the subsequent study of their medicinal properties.

The **aim** of the study is to conduct research into the antiviral properties of melanin obtained from the pharmaceutical chaga mushroom in relation to different subtypes of the influenza A virus.

Materials and methods. A sample of water-soluble melanin from *Inonotus obliquus* obtained by alkaline hydrolysis and dried at 40°C was tested for toxicity and antiviral activity. The commercial anti-influenza drug Tamiflu® was used as a reference drug. Statistical processing of the obtained data was carried out according to the Spearman-Kerker method.

Results. *Inonotus obliquus* melanin (sample 20-24) toxicity markers, such as a maximum tolerable concentration (MTC) of 237.0 µg/mL, and a 50% cytotoxic concentration (CC₅₀) of 153,45 µg/mL were established for MDCK cell culture. The assessment of antiviral activity of test sample against three subtypes of the influenza A virus (H5N1, H3N2 and H1N1pdm09) demonstrated a decrease in the infectivity of the influenza virus by 2.5–3.5 lg with 50% virus-inhibiting concentrations (IC₅₀) of 1.55–9.52 µg/mL. Based on the obtained values of CC₅₀ and IC₅₀, the selectivity indices (SI) of the sample were calculated, characterizing its prospects for further research.

Conclusions. Melanin obtained from the pharmaceutical chaga mushroom showed the highest activity against the strain of the human pandemic influenza virus A/California/04/2009 (H1N1)pdm09, caused a decrease in its infectivity by 3.5 lg and had an IC₅₀ of 1.6 µg/ml. The obtained results indicate the prospects for creating an antiviral drug based on *Inonotus obliquus* melanins against the influenza virus.

Keywords: *melanins, agaricales, antiviral agents, influenza A virus*

Funding source. The article was prepared as part of the state task of the State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector".

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

For citation: Filippova E.I., Makarevich E.V., Protsenko M.A., Mazurkov O.Yu., Teplyakova T.V., Mazurkova N.A. Research on the antiviral activity of water-soluble melanin from the pharmaceutical chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) against influenza A virus subtypes H5N1, H3N2 and H1N1pdm09 in experiments *in vitro*. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):103–109. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-316>

Введение

Широкое разнообразие зоонозных вирусов, способных преодолевать межвидовой барьер, ведёт к появлению в человеческой популяции новых, потенциально пандемических вирусов. За последние 10 лет человечество столкнулось с двумя пандемиями: гриппа свиного происхождения А/Н1N1pdm09 в 2009 г. и COVID-19 в 2019 г. Совместно с вирусами, имеющими пандемическое значение, циркулирует множество сезонных респираторных вирусов, которые вносят свой вклад в структуру заболеваемости людей, а сочетанные инфекции отягчают состояние заболевших [1].

Вирус гриппа характеризуется активной сезонной циркуляцией, затрагивающей большую часть населения Земли (до 1 млрд случаев гриппа ежегодно), группы риска — дети раннего возраста, пожилые люди, лица с сопутствующими хроническими заболеваниями и ослабленным иммунитетом [2]. Высокий уровень генетической изменчивости вирусов гриппа обуславливает отсутствие 100% эффективной вакцины, а также возникновение резистентности штаммов вируса к имеющимся противовирусным препаратам [3].

В настоящее время в мире активно проводятся поиск и разработка противовирусных препаратов

на основе соединений природного происхождения, обладающих более мягким терапевтическим действием и низкой токсичностью по сравнению с синтетическими лекарственными средствами. В этом отношении базидиальные грибы представляют значительный интерес как источники лечебных и профилактических средств с противоопухолевой, иммуностимулирующей и противовирусной активностью.

С 2008 г. в ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» проводятся изучение противовирусной активности плодовых тел грибов Юго-Западной Сибири и выделение их в чистую культуру. На основе скрининга полисахаридов и меланина из грибов, самый широкий спектр противовирусной активности обнаружен у чаги (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát; трутовик скошенный) [4, 5].

Известна высокая протективная активность образцов меланинов из чаги *in vitro* в отношении вируса гриппа субтипа H1N1pdm09, вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1), вируса простого герпеса 2-го типа (ВПГ-2), вируса Западного Нила, вируса натуральной оспы и вируса осповакцины [6].

Показана высокая противовирусная активность в отношении SARS-CoV-2 водных экстрактов чаги, содержащих меланин и гуминовые вещества. Данные экстракты обладали низкой токсичностью, 50% эффективной дозой ($ЭД_{50}$) 0,75 мкг/мл, высоким химиотерапевтическим индексом (ХТИ) — 155,5 [7].

Водные экстракты, полученные из склероция чаги, ингибировали инфекционность штаммов вируса гриппа A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и A/Moscow/226/2009(H1N1)pdm09 с индексами нейтритализации 4,7 и 3,2 Ig соответственно. Противогриппозное действие данных образцов было сопоставимо с активностью препарата Тамифлю® [6].

Целью настоящего исследования является изучение противогриппозных свойств меланина, полученного из аптечной чаги. Задачи исследования: получение водорастворимого меланина, определение токсичности полученного образца, тестирование способности меланина подавлять инфекционность вируса гриппа, определение 50% токсических и 50% ингибирующих вирус гриппа концентраций образцов.

Материалы и методы

Культура клеток

Для определения токсичности и противовирусной активности грибных меланинов использовали перевиваемую линию клеток MDCK, полученную из коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор». Клетки выращивали в среде DMEM (ООО «Биолот») в присутствии 10% инактивированной сыворотки крови плодов коровы (ООО «Биолот») и антибиотиков (пенициллин 100 МЕ/мл, стрепто-

мицин 100 мкг/мл). Клеточную суспензию вносили в 96-луночные планшеты по 100 мкл в лунку в концентрации $1,0-1,5 \times 10^5$ клеток/мл. Планшеты с клетками помещали в термостат при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности на 2–3 сут до образования клеточного монослоя.

Вирусы

В работе использовали штаммы вируса гриппа А: штамм вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) с инфекционным титром $7,25 \pm 0,49 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$; штамм адаптированного к лабораторным мышам вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) с инфекционным титром $4,50 \pm 0,69 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$; штамм пандемического вируса гриппа человека A/California/04/2009 (H1N1)pdm09 с инфекционным титром $5,00 \pm 0,57 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. Все используемые штаммы получены из Государственной коллекции микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор».

Концентрацию вируса каждого субтипа определяли путём титрования в культуре клеток MDCK при культивировании в течение 3 сут в термостате при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Титры вируса рассчитывали по методу Спирмена–Кербера, выражали в десятичных логарифмах 50% тканевых цитопатических доз в 1 мл ($\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$) и представляли в виде $M \pm I_{95}$ для (где M — среднее значение, I_{95} — 95% доверительный интервал) и сравнивали по методу Спирмена–Кербера с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» [8, 9].

Исследуемые образцы

Для получения водорастворимого меланина из аптечной чаги (образец 20-24) к 5 г сухого измельчённого (до 1 мм) природного сырья чаги добавляли 100 мл 2% NaOH и выдерживали в автоклаве 30 мин при избыточном давлении 0,7 атм. Далее полученный раствор фильтровали через капроновый и бумажный фильтры. Меланин осаждали концентрированной соляной кислотой и центрифугировали (центрифуга «Centra CL3») 20 мин при 4000 об/мин. Далее проводили 3-кратное пересаживание 1Н соляной кислотой и трижды промывали осадок дистиллированной водой (1 : 10). Полученный препарат не растворяется в воде, но хорошо растворяется в щелочах. Водорастворимую форму меланина получали путём растворения полученного пигмента в 10% водном растворе аммиака (значение pH от 7 до 8) с последующим мягким выпариванием остаточного аммиака и воды до сухого состояния при температуре воздушного потока 30°C. Полученный препарат полностью растворим в воде. Для проведения экспериментов по изучению токсичности и противовирусной активности сухой меланин был растворён в дистиллированной воде до концентрации 2 мг/мл.

В качестве референс-препарата использовали Тамифлю® («Hoffmann-La Roche Ltd.»).

Определение максимально переносимых концентраций образцов и изучение их способности подавлять инфекционность вируса гриппа in vitro

При определении токсических концентраций меланина из чаги исходную концентрацию образца (800 мкг/мл) разводили в 1,5; 2,3; 3,4; 5,0; 7,6; 11,4; 17,1; 25,6; 38,5; 57,5; 86,5; 129,7 раза (с шагом 1,5) средой DMEM, вносили по 100 мкл разведений меланина в лунки 96-луночного планшета с клеточным монослоем (по 4 лунки на каждое разведение образца) и убирали в термостат на 2 сут при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Спустя 2 сут с помощью инвертированного микроскопа производили оценку деструктивных изменений монослоя клеток MDCK, инкубированных с различными концентрациями исследуемого образца. Параллельно, в качестве клеточного контроля, использовали монослой культуры MDCK без внесения препарата. За максимально переносимую концентрацию (МПК) принимали ту концентрацию, при которой не было выявлено цитотоксического эффекта.

Исследование способности грибного меланина 20-24 влиять на инфекционную активность (титр) вируса гриппа А в монослое клеток было проведено при использовании МПК для данной клеточной культуры. Препарат сравнения Тамифлю® был использован в концентрации 100 мкг/мл. В лунки 96-луночных планшетов с клеточным монослоем за 1 ч до заражения вносили по 100 мкл образца, разведённого до необходимой концентрации средой DMEM, содержащей 2 мкг/мл трипсина TPCK («Sigma»). Инфицирование монослоя клеток осуществляли десятикратными разведениями вируса гриппа, приготовленными на этой же среде, в объёме 100 мкл/лунку (по 4 лунки на каждое разведение вируса). Клетки инкубировали 2 сут при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности. Далее определяли наличие вируса гриппа в культивируемой среде по реакции гемагглютинации с 1% суспензией куриных эритроцитов. Титр вируса гриппа в опыте (с исследуемым образцом), а также в соответствующем контроле (без образца) определяли в Ig ТЦД₅₀/мл и рассчитывали индекс нейтрализации (ИН), составляющий разницу между титрами вируса в контроле и опыте (Ig) [10]. В соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [10] вещество обладает высокой активностью, если подавляет инфекционность вируса в 100 и более раз (ИН ≥ 2,0 Ig).

Определение 50% цитотоксических и 50% ингибирующих вирус гриппа концентраций образцов in vitro

Изучали изменение оптической плотности (ОП) раствора красителя, поглощённого живыми клетками в монослое культуры клеток MDCK,

определяли 50% цитотоксические (ЦТД₅₀) и 50% вирусингибирующие (ЭД₅₀) концентрации препаратов колориметрическим методом [11]. В эксперименте использовали ряд 12-кратных и последовательных 2-кратных разведений водного раствора меланина из чаги: в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2051, 4000 раз средой DMEM (диапазон исследуемых концентраций составлял 0,38–800 мкг/мл). Препарат сравнения Тамифлю® разводили 8 раз с шагом 3 средой DMEM (диапазон исследуемых концентраций составлял 0,046–100,0 мкг/мл).

Для определения ЦТД₅₀ ряд полученных разведений вносили на монослой клеток в объёме 100 мкл/лунку 96-луночного планшета и ставили в термостат при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности на 3 сут. В качестве клеточного контроля использовали интактный монослой (без внесения исследуемого образца).

Для определения ЭД₅₀ в отношении 3 штаммов вируса гриппа А в лунки 96-луночных планшетов с монослоем клеток вносили ряд разведений образцов в объёме 100 мкл/лунку, через 2 ч инкубирования при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности препарат удаляли из лунок и вносили по 100 мкл разведения вируса с множественностью инфицирования 0,1 ТЦД₅₀/клетку. Спустя 1 ч адсорбции вируса на клетках удаляли вирусосодержащую жидкость и снова вносили исследуемые образцы на монослой. В качестве контроля вируса использовали инфицированный монослой клеток (без внесения препарата). Планшеты помещали в термостат при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности на 3 сут.

После инкубирования в лунки планшета, содержащие культуральную среду, вносили витальный (прижизненный) краситель нейтральный красный (50 мкл/лунку) и инкубировали 2 ч при 37°C. Далее клетки промывали двукратно физиологическим раствором в объёме 400 мкл/лунку, вносили лизирующий буфер (смесь равных частей этилового спирта и 0,01 М раствора моноаммонийфосфата, pH 3,5) и через 30 мин определяли ОП. Величину ОП измеряли с помощью многофункционального спектрофотометра «xMark Microplate Absorbance Reader» при длине волны 540 нм, которая является показателем количества жизнеспособных клеток в монослое, сохранившихся при цитопатическом действии вируса или токсического действия исследуемого образца. Затем при помощи компьютерной программы «SoftMaxPro 4.0» результаты ОП представляли в полулогарифмической системе координат. На основании полученных данных рассчитывали ЦТД₅₀ и ЭД₅₀ для исследуемых препаратов. ЦТД₅₀ — величина концентрации определённого образца препарата в лунке планшета, под воздействием которого разрушается 50% клеточного монослоя, ЭД₅₀ — величина концентрации определённого образца препарата в

лунке планшета, под воздействием которого сохраняется 50% жизнеспособного клеточного монослоя. Полученные данные дают возможность рассчитать химиотерапевтический индекс (ХТИ) препарата по формуле: $ХТИ = ЦТД_{50}/ЭД_{50}$. Активными считаются соединения с $ХТИ \geq 8 [10]$.

Результаты

При визуальном изучении цитотоксичности водного раствора меланина из чаги установлено, что МПК данного препарата, не оказывающая на клетки токсического действия, составила 237,0 мкг/мл. Результаты определения противовирусной активности экспериментального образца 20-24, снижающего инфекционность (титры) 3 штаммов вируса гриппа в культуре клеток MDCK, представлены в **табл. 1**.

Под действием исследуемого образца чаги наблюдалось снижение титра вируса гриппа A/California/04/2009 (H1N1)pdm09 в 3162 раза, титра вируса A/Aichi/2/68 (H3N2) — в 1000 раз, титра вируса A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) — в 316 раз относительно соответствующих контролей (без образца). ИН составляли 2,5–3,5 Ig.

Определены ЦТД₅₀ и ЭД₅₀ для образца 20-24 и Тамифлю® в отношении 3 штаммов вируса гриппа А и рассчитаны соответствующие значения ХТИ (**табл. 2**). ЭД₅₀ образца 20-24 для 3 субтипов вируса

гриппа находились в пределах от 1,6 до 9,5 мкг/мл. В отношении пандемического вируса гриппа A/H1N1pdm09 исследуемый образец оказался наиболее активным, т.к. проявил 50% вирусингибирующую активность при наименьшей концентрации (ЭД₅₀ = 1,6 мкг/мл).

Обсуждение

Проведённые исследования показали, что образец меланина 20-24, полученный из чаги, обладает противовирусным действием в системе *in vitro* в отношении исследуемых штаммов вируса гриппа: A/California/04/2009 (H1N1)pdm09, A/Aichi/2/68 (H3N2) и A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1). В исследовании по изучению снижения инфекционности под действием меланина из чаги для 3 субтипов вируса гриппа А выявлены статистические отличия от соответствующих контролей вируса (без внесения образца), установленные по методу Спирмена–Кербера (табл. 1). В данном эксперименте обнаружено, что противовирусное действие образца 20-24 в отношении всех исследуемых штаммов вируса гриппа было сопоставимо с действием Тамифлю®. Разница индексов нейтрализации между референс-препаратом и тестируемым образцом не превышала 1,0 Ig.

При сравнении значений ХТИ для меланина, полученного из чаги, в отношении 3 штаммов виру-

Таблица 1. Снижение инфекционности вируса гриппа А в культуре клеток MDCK под действием водорастворимого меланина из чаги и референс-препарата Тамифлю®

Table 1. Reduction of the influenza A virus infectivity under the influence of water-soluble melanin 20-24 obtained from *Inonotus obliquus* and reference drug Tamiflu®

Штамм вируса гриппа Influenza virus strain	Опыт/контроль Experiment/control	Титр вируса гриппа, Ig TCID ₅₀ /мл Virus titer, Ig TCID ₅₀ /mL ($M \pm I_{95}; n = 4$)	ИН, Ig Neutralization index (IN), Ig
A/California/04/2009 (H1N1)pdm09	Образец 20-24 Sample 20-24	1,50 ± 0,00*	3,50
	Тамифлю® Tamiflu®	2,25 ± 0,49	2,75
	Контроль вируса Virus control	5,00 ± 0,57	–
A/Aichi/2/68 (H3N2)	Образец 20-24 Sample 20-24	1,50 ± 0,00*	3,00
	Тамифлю® Tamiflu®	0,50 ± 0,00*	4,00
	Контроль вируса Virus control	4,50 ± 0,69	–
A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1)	Образец 20-24 Sample 20-24	4,75 ± 0,49*	2,50
	Тамифлю® Tamiflu®	5,00 ± 0,57*	2,25
	Контроль вируса Virus control	7,25 ± 0,49	–

Примечание. *n* — число лунок с монослоем клеток, инфицированных разными разведениями вируса. **p* ≤ 0,05 по сравнению с контролем (без образца) по методу Спирмена–Кербера.

Notes. TCID₅₀ — 50% tissue culture infectious doses; *M* (mean) and SD (standard deviation) for 95% confidence interval calculated by the Spearman–Kerberman method; *n* means the number of wells with the cell monolayer infected with viruses in different concentrations. **p* ≤ 0.05 compared to the control (sample-free) by the Spearman–Kerberman method.

Таблица 2. Противовирусная активность водорастворимого меланина 20-24 из чаги и референс-препарата Тамифлю® в отношении вируса гриппа А в культуре клеток MDCK**Table 2.** Antiviral activity of water-soluble melanin 20-24 obtained from *Inonotus obliquus* and reference drug Tamiflu® against influenza A virus in MDCK cell culture

Штамм вируса гриппа Influenza virus strain	Опыт/контроль Experiment/control	ЦТД ₅₀ , мкг/мл CC ₅₀ , µg/mL	ЭД ₅₀ , мкг/мл IC ₅₀ , µg/mL	ХТИ SI
A/California/04/ 2009 (H1N1)pdm09	Образец 20-24 Sample 20-24	153,45	1,55	99,00
	Тамифлю® Tamiflu®	> 100,00	0,94	> 106,38
A/Aichi/2/68 (H3N2)	Образец 20-24 Sample 20-24	153,45	5,70	26,92
	Тамифлю® Tamiflu®	> 100,00	0,06	> 1666,67
A/chicken/Kurgan/ 05/2005 (H5N1)	Образец 20-24 Sample 20-24	153,45	9,52	16,07
	Тамифлю® Tamiflu®	> 100,00	0,02	> 5000,00

Note. CC₅₀ — 50% cytotoxic concentration; IC₅₀ — 50% inhibitory (effective) concentration; SI — selectivity index.

са гриппа установлено, что самое высокое значение данного показателя, составляющее 99,0 (сопоставимое со значением ХТИ Тамифлю®), было обнаружено для вируса гриппа А/California/04/2009 (H1N1)pdm09. Т.В. Тепляковой и соавт. установлено высокое значение ХТИ меланинов, выделенных из культуральной жидкости и биомассы культивируемого мицелия чаги (штамм F-1244), которое достигало 160 в отношении этого же штамма вируса гриппа [6, 12]. В отношении вируса гриппа А субтипов H3N2 и H5N1 нами были получены значения ЭД₅₀ 5,7 и 9,52 мкг/мл, а ХТИ — 26,92 и 16,07 соответственно.

Таким образом, меланин из чаги 20-24 проявил высокую активность в отношении вируса гриппа А разных субтипов (H1N1pdm09, H3N2, H5N1). При этом наибольшую активность образец меланина оказал против пандемического вируса гриппа А/H1N1pdm09 (снижал его инфекционность на 3,5 lg и обладал ЭД₅₀ 1,6 мкг/мл) [6].

Полученные результаты указывают на перспективность создания противогриппозного препарата на основе меланина *Inonotus obliquus* широкого спектра, снижающего вирусную нагрузку.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Киселева И.В., Ларионова Н.В., Григорьева Е.П., Ксенафонтов А.Д., Фаррух М.А., Руденко Л.Г. Особенности циркуляции респираторных вирусов в пред- и пандемические по гриппу и COVID-19 периоды. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(6): 1009–19. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-SFO-1662>
2. Lampejo T. Influenza and antiviral resistance: an overview. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 39(7): 1201–08. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03840-9>
3. Зырянов С.К., Бутранова О.И., Гайдай Д.С., Крышень К.Л. Фармакотерапия острых респираторных инфекций, вызванных вирусами гриппа. *Терапевтический архив*. 2021; 93(1): 114–24. <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.01.200551>
4. Косогова Т.А. Штаммы базидиальных грибов юга Западной Сибири — перспективные продуценты биологически активных препаратов: дисс. ... канд. биол. наук. Кольцово; 2013.
5. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири — перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск; 2014.

6. Теплякова Т.В., Ильичева Т.Н., Маркович Н.А. Перспективы создания препаратов против гриппа на основе лекарственных грибов (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*. 2020; 56(5): 409–18. <https://doi.org/10.31857/S0555109920050141>
7. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Safatov A.S., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Skarnovich M.O., et al. Water extract of the chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (Agaricomycetes), inhibits SARS-CoV-2 replication in Vero E6 and Vero cell culture experiments. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2022; 24(2): 23–30. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012>
8. Закс Л. *Статистическое оценивание*. Пер. с нем. М.: Статистика; 1976.
9. Халафян А.А. *Statistica 6. Статистический анализ данных*. М.: Бином-Пресс; 2010.
10. Хабриев Р.У., ред. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина; 2005.
11. Paragas J., Whitehouse C.A., Endy T.P., Bray M. A simple assay for determining antiviral activity against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral. Res.* 2004; 62(1): 21–5. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2003.11.006>
12. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Ильичева Т.Н., Гражданцева А.А., Даниленко Е.Д., Лебедев Л.Д. и др. Штамм базидиального гриба *Inonotus obliquus* — продуцент пигмента меланина, обладающего противовирусной и противоопухолевой активностью. Патент РФ № 2716590C1; 2020.

REFERENCES

1. Kiseleva I.V., Larionova N.V., Grigor'eva E.P., Ksenafontov A.D., Farrukh M.A., Rudenko L.G. Salient features of circulating respiratory viruses in the pre- and pandemic influenza and Covid-19 seasons. *Infektsiya i immunitet*. 2021; 11(6): 1009–19. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-SFO-1662> (in Russian)
2. Lampejo T. Influenza and antiviral resistance: an overview. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 39(7): 1201–08. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03840-9>
3. Zyryanov S.K., Butranova O.I., Gayday D.S., Kryshen' K.L. Pharmacotherapy for acute respiratory infections caused by influenza viruses: current possibilities. *Terapevicheskij arkhiv*. 2021; 93(1): 114–24. <https://doi.org/10.26442/00403660.2021.01.200551> (in Russian)
4. Kosogova T.A. *Strains of basidial fungi of the south of Western Siberia – promising producers of biologically active drugs*: Diss. Kolt'sovo; 2013. (in Russian)
5. Teplyakova T.V., Kosogova T.A. *Higher fungi of Western Siberia — Promising Objects for Biotechnology of Medicines*

- [Vysshie griby Zapadnoy Sibiri — perspektivnye ob"ekty dlya biotekhnologii lekarstvennykh preparatov]*. Novosibirsk; 2014. (in Russian)
6. Teplyakova T.V., Il'icheva T.N., Markovich N.A. Future developing medicines against influenza on the basis of medicinal mushrooms (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2020; (5): 409–18. <https://doi.org/10.31857/S0555109920050141> (in Russian)
 7. Teplyakova T.V., Pyankov O.V., Safatov A.S., Ovchinnikova A.S., Kosogova T.A., Skarnovich M.O., et al. Water extract of the chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (Agaricomycetes), inhibits SARS-CoV-2 replication in Vero E6 and Vero cell culture experiments. *Int. J. Med. Mushrooms*. 2022; 24(2): 23–30. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021042012>
 8. Sachs L. *Statistische Auswertungsmethoden*. Berlin: Springer-Verlag; 1972.
 9. Khalafyan A.A. *Statistica 6. Statistical Data Analysis [Statistica 6. Statisticheskiy analiz dannyykh]*. Moscow: Binom-Press; 2010. (in Russian)
 10. Khabriev R.U., ed. *Guidelines for Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv]*. Moscow: Meditsina; 2005. (in Russian)
 11. Paragas J., Whitehouse C.A., Endy T.P., Bray M. A simple assay for determining antiviral activity against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral. Res.* 2004; 62(1): 21–5. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2003.11.006>
 12. Teplyakova T.V., Kosogova T.A., Il'icheva T.N., Grazhdantseva A.A., Danilenko E.D., Lebedev L.D., et al. The strain of the basidial fungus *Inonotus obliquus* is a producer of melanin pigment with antiviral and antitumor activity. Patent RF No. 2716590C1; 2020. (in Russian)

Информация об авторах

Филиппова Екатерина Игоревна — н.с. отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9554-4462>

Макаревич Елена Викторовна — н.с. отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5146-8979>

Проценко Мария Анатольевна — к.б.н., с.н.с. отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, protsenko_ma@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1995-7588>

Мазурков Олег Юрьевич — к.б.н., с.н.с. отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8164-4091>

Теплякова Тамара Владимировна — д.б.н., профессор, в.н.с. отдела биофизики и экологических исследований ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4754-5051>

Мазуркова Наталья Алексеевна — д.б.н., в.н.с. отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1896-2684>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 22.09.2022;
принята к публикации 29.11.2022;
опубликована 14.02.2022

Information about the authors

Ekaterina I. Filippova — researcher, Department of prevention and treatment of especially dangerous infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9554-4462>

Elena V. Makarevich — researcher, Department of prevention and treatment of especially dangerous infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5146-8979>

Maria A. Protsenko — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Department of prevention and treatment of especially dangerous infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, protsenko_ma@vector.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1995-7588>

Oleg Yu. Mazurkov — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Department of prevention and treatment of especially dangerous infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8164-4091>

Tamara V. Teplyakova — D. Sci. (Biol.), Professor, leading researcher, Department of Biophysics and Ecological Research, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4754-5051>

Natalya A. Mazurkova — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Department of prevention and treatment of especially dangerous infections, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1896-2684>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 22.09.2022;
accepted for publication 29.11.2022;
published 14.02.2022

ОБЗОРЫ

Научный обзор

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-310>

Микробиота желудочно-кишечного тракта и канцерогенез в различных органах человека

Костин Р.К.^{1✉}, Малюгин Д.А.², Соленова Л.Г.³, Кулаева Е.Д.⁴¹Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;²Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия;³Научно-исследовательский институт канцерогенеза Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия;⁴Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

Аннотация

Научные исследования последних лет выявили существенную роль микробиома человека в канцерогенезе, что послужило обоснованием включения полиморфных микробиомов в число ключевых характеристик канцерогенеза как важной механистической детерминанты рака в дополнение к другим основополагающим биологическим процессам, проявляющимся в ходе многостадийного канцерогенеза. Микробиом желудочно-кишечного тракта наиболее активно участвует в патогенезе злокачественных новообразований пищеварительной системы вследствие изменения количественного и качественного состава биоты, увеличения продукции генотоксичных бактериальных метаболитов как факторов канцерогенеза. В обзоре также отражены изменения микробиома при раке лёгкого, связанные главным образом с продукцией короткоцепочечных жирных кислот, а при раке молочной железы и эндометрия — со специфическими изменениями состава бактериального сообщества в сторону видов — участников процесса метаболизма предшественников эстрогена. Рассмотрены вероятные механизмы участия микроорганизмов в развитии рака предстательной железы (влияние липополисахаридов, антибиотиков и деконъюгированного эстрогена). Данные о взаимосвязи состава и метаболических характеристик микробиома при различных онкологических заболеваниях открывают перспективы его использования в диагностике, лечении и профилактике злокачественных новообразований и обосновывают необходимость дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: микробиом, злокачественные новообразования, *Helicobacter pylori*, эстроген, липополисахарид, антибиотик, короткоцепочечные жирные кислоты

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

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

Для цитирования: Костин Р.К., Малюгин Д.А., Соленова Л.Г., Кулаева Е.Д. Микробиота желудочно-кишечного тракта и канцерогенез в различных органах человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):110–125.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-310>

Gut microbiota and carcinogenesis in various human organs

Roman K. Kostin¹✉, Dmitriy A. Malyugin², Liya G. Solenova³, Elizaveta D. Kulaeva⁴

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia;

³Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center for Oncology, Moscow, Russia;

⁴South Federal University, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Scientific research in recent years has revealed a significant role of the human microbiome in carcinogenesis. These data served as a rationale for the inclusion of polymorphic microbiomes in the key characteristics of carcinogenesis as an important mechanistic determinant of cancer, in addition to other fundamental biological processes manifested during multi-stage carcinogenesis. The microbiome of the gastrointestinal tract is most actively involved in the pathogenesis of malignant neoplasms of the digestive system due to changes in the quantitative and qualitative composition of the microbiota, and increase in the production of genotoxic bacterial metabolites as factors of carcinogenesis. This review also addresses the changes in the microbiome in lung cancer, associated mainly with the production of short-chain fatty acids, and in breast and endometrial cancers with specific changes in the composition of the bacterial community towards species involved in the metabolism of estrogen precursors. The probable mechanisms of microorganisms' participation in the development of prostate cancer (the effect of lipopolysaccharides, antibiotics and deconjugated estrogen) are considered.

Data on the relationship between the composition and metabolic characteristics of the microbiome in various cancer sites open up perspectives for its use in the diagnosis, treatment and prevention of malignant neoplasms and justify the need for further research in this area.

Keywords: review, microbiome, cancer, *Helicobacter pylori*, estrogen, lipopolysaccharide, antibiotic, short-chain fatty acids

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

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

For citation: Kostin R.K., Malyugin D.A., Solenova L.G., Kulaeva E.D. Gut microbiota and carcinogenesis in various human organs. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):110–125.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-310>

Введение

Злокачественные новообразования входят в число ведущих социально значимых заболеваний. Ввиду высокой заболеваемости и смертности данные заболевания сопряжены с большими социальными потерями существенной нагрузкой на здравоохранение и высокими экономическими затратами [1]. Выявление факторов, влияющих на онкологические риски, не теряет своей актуальности и входит в число научных приоритетов. Наряду с большим перечнем физических и химических канцерогенов, этиологическими факторами в развитии онкопатологии признаны микроорганизмы (вирусы, бактерии, простейшие). В последние годы особое внимание научного сообщества привлекает изучение микроорганизмов, населяющих организм человека и способных модифицировать онкологические риски, обусловленные действием эндогенных и экзогенных канцерогенных факторов. Подавляющая масса этих микроорганизмов, по своей природе являющихся симбионтами, сосредоточена в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ).

Микробиом ЖКТ человека — это большое, сложное, динамичное микробное сообщество, состоящее из 10^{14} микроорганизмов более чем 1000 видов, что эквивалентно 4×10^6 генам [1]. В ЖКТ человека чаще всего встречаются *Firmicutes* ($\approx 51\%$) и *Bacteroidetes* ($\approx 48\%$), далее следуют представители других типов бактерий, включая *Actinobacteria*, *Cyanobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* [2, 3]. В дистальных отделах ЖКТ увеличивается численность микробиоты, она становится более разнообразной (рис. 1).

Микробиота ЖКТ влияет на иммунологические и метаболические процессы в организме человека различными путями, основными из которых являются:

1) стимуляция или, напротив, подавление выделения цитокинов: фактора некроза опухоли (ФНО), интерферона- γ , интерлейкинов (ИЛ) — провоспалительных (ИЛ-1, -2, -6, -8) или противовоспалительных (ИЛ-4, -10) [4];

2) индукция воспалительных реакций посредством образования токсинов и генотоксичных мета-

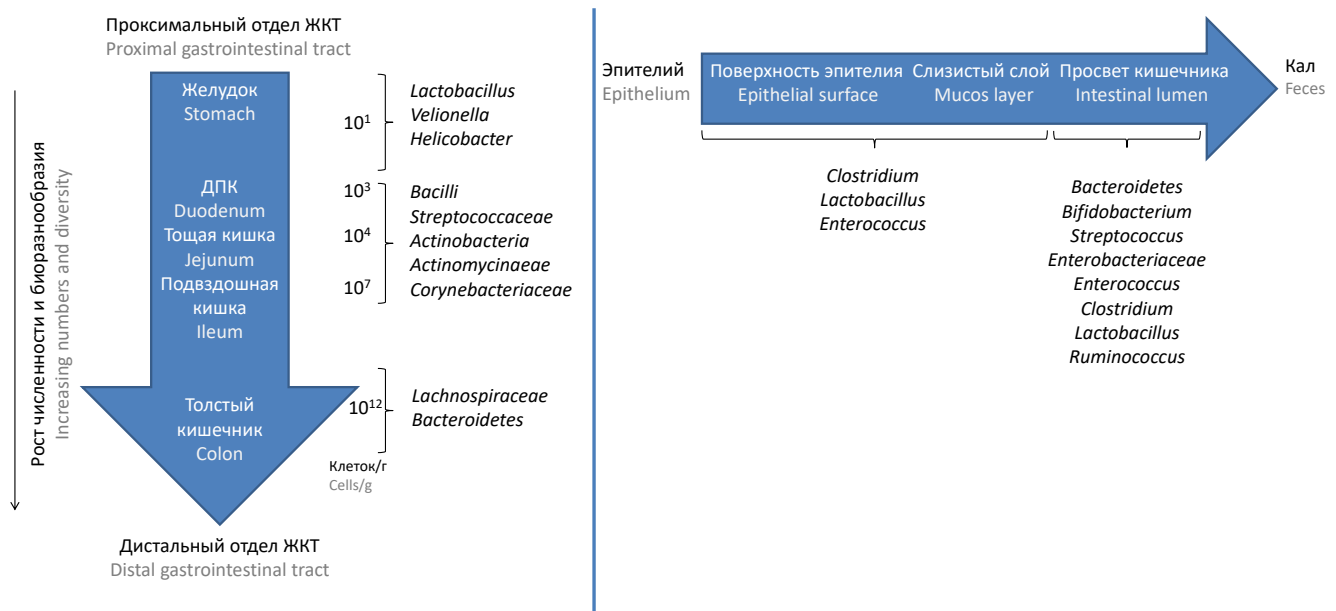


Рис. 1. Микробиом различных отделов ЖКТ и его распределение в слоях кишечника (адаптировано из [3]).

Fig. 1. Microbiome of different parts of the gastrointestinal tract and its distribution in intestinal layers (adapted from [3]).

болитов (колибактин *Escherichia coli*, цитолетальный разрыхляющий токсин *Compylobacter jejuni*), а также нарушения нормальной функции слизистого барьера [4];

3) продукция короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые необходимы для поддержания клеточного гомеостаза, поскольку они способствуют модуляции гистоновых деацетилаз, что приводит к прикреплению клеток бактерий к стенкам ЖКТ, миграции иммунных клеток, выработке цитокинов, хемотаксису и апоптозу [4];

4) канцерогенное действие липополисахаридов (ЛПС) клеточной стенки (для грамотрицательных бактерий);

5) изменение местного и системного иммунитета посредством нескольких механизмов:

- изменённую экспрессию генов, кодирующих белки, участвующие в воспалительной реакции;
- пролиферацию и апоптоз;
- через ряд иммунно-опосредованных изменений (аномальная экспрессия субпопуляций лейкоцитов, изменение секреции антител, цитокинов и иммуноглобулинов);

6) влияние на уровень циркулирующих эстрогенов и баланс в энергетическом обмене [1, 5] (**рис. 2**).

Понимание механизмов канцерогенеза, связанных с микроорганизмами, населяющими ЖКТ, а также разработка новых подходов к регулированию количественного и качественного состава микробиоты ЖКТ в дальнейшем важны при создании инновационных методов лечения и профилактики онкологических заболеваний. Постоянно пополняющийся объём экспериментальных и эпидемио-

логических исследований делает необходимым их обобщение, структурирование и анализ как основы их практического использования в онкологии.

Цель исследования — обобщение текущих данных о роли микробиоты ЖКТ в патогенезе онкологических заболеваний в различных органах человека с акцентом на молекулярные механизмы взаимодействия микробиоты и макроорганизма.

Проанализированы статьи базы данных MEDLINE (PubMed). Поиск выполнялся по расширенному перечню ключевых слов, включающему все рассматриваемые в обзоре локализации злокачественных новообразований. Мы создали строку поиска, используя логический оператор соединения (AND) и логический оператор дизъюнкции (OR). Поиск был основан на метаданных, включая название, аннотацию и ключевые слова. Были учтены следующие параметры: публикации за последние 10 лет, бесплатный полный доступ к тексту статьи, язык публикации — английский.

Всего было найдено 1233 статьи (клинические испытания, оригинальные исследования, метаанализы, рандомизированные контролируемые исследования, традиционные, систематические и зонтичные обзоры). Далее просматривались заголовки, аннотации, полнотекстовые версии статей. Были отобраны 30 соответствующих тематике статей. В процессе изучения исследований также просматривались другие источники, включённые в список литературы отобранных статей.

Микробиота при раке пищевода

Механизм аденокарциномы пищевода активно изучается в связи с воздействием генетических,

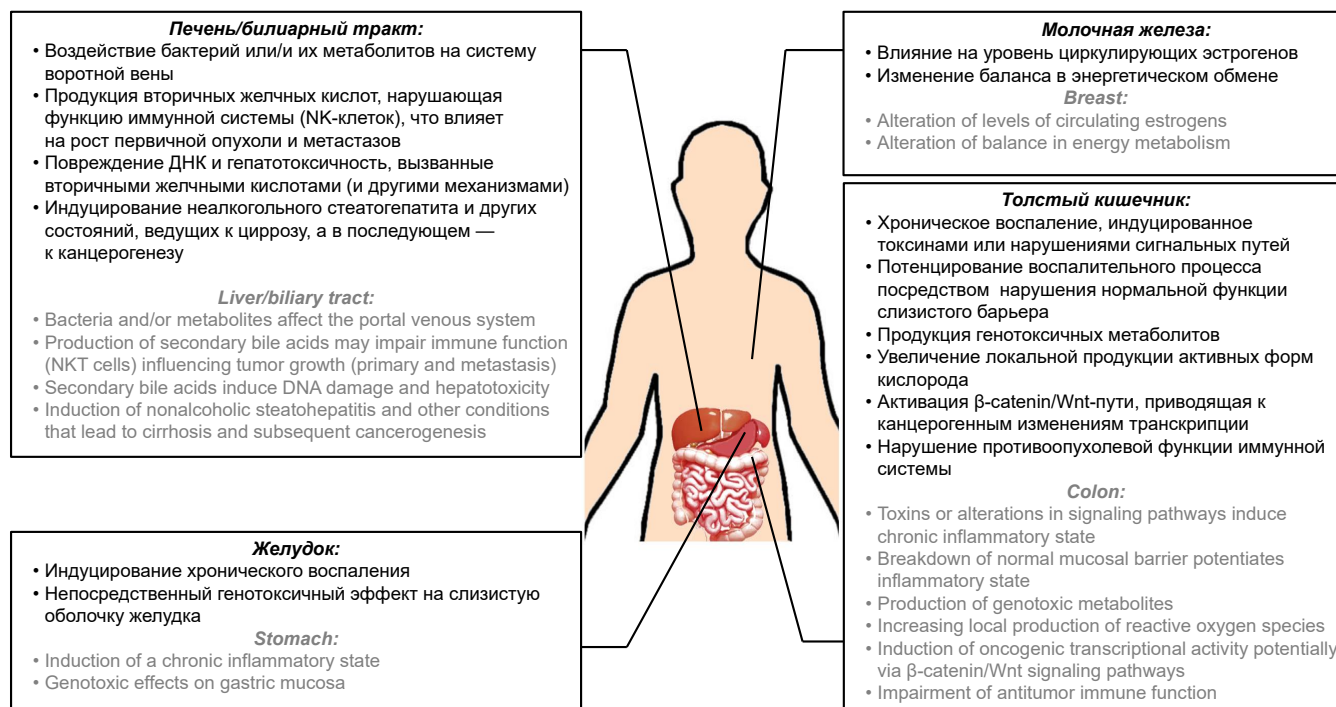


Рис. 2. Влияние кишечной микрофлоры на развитие злокачественных новообразований (адаптировано из [6]).

Fig. 2. Influence of intestinal microflora on the malignant neoplasms development (adapted from [6]).

средовых, поведенческих факторов [7]. Анализ микрофлоры образцов ткани здорового пищевода, ткани при пищеводе Барретта и при эзофагите показал значительные различия в них бактериального состава. При эзофагите доля грамотрицательных анаэробов и микроаэрофилов была увеличена в 15,4 раза, при пищеводе Барретта — в 16,5 раза [7]. В исследовании, проведённом на 34 пациентах, обнаружено, что *Streptococcus* — наиболее распространённый таксон в нормальном пищеводе и при рефлюкс-эзофагите, но при пищеводе Барретта преобладают *Veillonella* (анаэробы), *Prevotella* (облигатные анаэробы), *Haemophilus* (факультативные анаэробы), *Neisseria* (аэробы) и *Rothia* [7]; род *Fusobacterium* (строгие анаэробы) был обнаружен только в пищеводе с рефлюкс-эзофагитом или пищеводе Барретта [8]. В другом исследовании в когорте пациентов с пищеводом Барретта выявлена связь между соотношением микроорганизмов родов *Streptococcus* и *Prevotella* и абдоминальным ожирением, а также длиной грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, которые являются двумя известными факторами риска аденокарциномы [8].

Такие компоненты бактерий, как клеточная стенка и ДНК, могут выступать в качестве лигандов для некоторых рецепторов на эпителии пищевода. Микрофлора пищевода, в которой преобладают грамотрицательные бактерии (*Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* [9]), содержит большое количество ЛПС [10]. ЛПС же могут задерживать опорожнение желудка с помощью циклооксигеназы

1/2 или непосредственно влиять на функцию нижнего пищеводного сфинктера, повышая внутрижелудочное давление и способствуя возникновению гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, что может приводить к развитию аденокарциномы [10]. ЛПС (а также пептидогликан и флагеллин) выступают в качестве лиганда для Толл-подобного рецептора 4 (TLR4), активируя его экспрессию [10]. Активация TLR4 запускает путь NF- κ B, связанный с канцерогенезом [11]. Кроме того, после того как клетки пищевода Барретта взаимодействовали с ЛПС, увеличивались экспрессия NOD-подобного рецепторного белка 3, активность каспазы-1 и секреция ИЛ-1 β и -18, что было связано с активацией активных форм кислорода под действием ЛПС и способствовало развитию рака [11].

При плоскоклеточном раке в тканях пищевода, содержащих *Fusobacterium nucleatum*, увеличено количество специфических генов хемокина CCL20, что указывает на то, что *F. nucleatum* может способствовать опухолевой инвазии путем стимуляции хемокинов [12]. Известно, что хемокины и их рецепторы участвуют в развитии и прогрессировании опухоли [11].

Белок, ассоциированный с цитотоксином А (CagA), и вакуолизирующий цитотоксин А (VacA), продуцируемые *Helicobacter pylori*, могут стимулировать канцерогенез. CagA индуцирует повреждение ДНК через опосредованную хозяином повышенную выработку активных форм кислорода [11]. VacA может изменять проницаемость мем-

бран и увеличивать скорость апоптоза [11]. CagA⁺ *H. pylori* может вызывать разрывы ДНК в эпителиальных клетках пищевода, что приводит к атипичной гиперплазии плоских эпителиальных клеток пищевода [13, 14].

Микробиота при раке желудка

В России в 2020 г. заболеваемость раком желудка составила 21,89 случая на 100 тыс. населения, а количество новых зарегистрированных случаев — 32 063 [15]. Высокая распространённость этой патологии во многом определяет интерес к факторам риска его развития, включая биологические факторы.

Желудочная микробиота больных раком желудка характеризуется снижением количества представителей *Porphyromonas*, *Neisseria*, *Saccharibacteria*, *Prevotella pallens*, *Streptococcus sinensis* и одновременным увеличением количества бактерий *Lactobacillus coleohominis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Lachnospiraceae* [16]. В кишечнике больных раком желудка наблюдается повышение числа факультативных анаэробов — представителей семейства *Streptococcaceae* и семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Escherichia*. В отношении облигатных анаэробов наблюдается обратная тенденция — в частности, содержание в кишечнике бактерий *Faecalibacterium* у онкологических больных ниже на 61,4% по сравнению с данными у людей, не страдающих онкологическими заболеваниями. Это свидетельствует о кислородзависимых изменениях кишечной микробиоты у пациентов с раком желудка. В стуле этих пациентов чаще встречаются представители типа *Proteobacteria* ($p = 0,0155$), а значимых отличий по содержанию представителей типов *Bacteroidetes* и *Firmicutes* между онкологическими больными и здоровыми не обнаружено [17]. Микробное сообщество у *H. pylori*-положительных лиц также характеризуется увеличением в микробиоме желудка доли *Proteobacteria* (аэробы и анаэробы), *Spirochaetales* (аэробы и анаэробы) и *Acidobacteria* (преимущественно аэробы), а также снижением доли *Actinobacteria* (преимущественно аэробы), *Bacteroidetes* (анаэробы) и *Firmicutes* (анаэробы) [9]. Наоборот, у *H. pylori*-отрицательных людей отмечается повышение количества *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria* [18].

Известно, что рак желудка ассоциирован с воспалительными процессами слизистой оболочки, и важнейшая роль в воспалительном процессе принадлежит *H. pylori*. В желудке лиц, инфицированных *H. pylori*, отмечается повышенное накопление провоспалительных цитокинов, в том числе интерферона- γ , ФНО- α , ИЛ-1, -1 β , -6, -7, -8, -10 и -18 [9]. Инфицирование CagA-положительными штаммами приводит к активации в желудке онкогенных сигнальных

путей (ERK/MAPK, PI3K/Akt, NF- κ B, Wnt/ β -catenin, Ras, Sonic Hedgehog, STAT3) и возникновению мутаций гена *P53* [19, 20]. VacA активирует фактор роста эндотелия сосудов и усиливает активность сигнального пути Wnt/ β -катенин, необходимого для роста и дифференцировки клеток, а также ингибирует GSK3 через сигнальный путь PI3K/Akt [21–23].

Важно отметить, что эрадикационная терапия при инфицировании *H. pylori* может способствовать восстановлению микробиоты желудка, увеличивая количество таких бактерий, как *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, а также бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [24]. Эффективная эрадикация *H. pylori* способствует снижению риска возникновения рака желудка (относительный риск (ОР) = 0,46; 95% ДИ 0,32–0,66) [25].

Роль микробиоты в развитии гепатоцеллюлярной карциномы

Среди опухолей печени гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) диагностируется более чем в 80% случаев. ГЦК является агрессивной опухолью: при некоторых её формах от момента появления выраженной клинической картины до смерти пациента проходит всего несколько месяцев [25]. Часто регистрируются скрытые формы, когда симптомы проявляются уже при значительных размерах опухоли и наличии отдалённых метастазов. В связи с этим особенно актуально выявление факторов риска ГЦК, помимо уже хорошо известных: цирроза печени, инфицирования вирусом гепатита В и/или С, неалкогольной жировой болезни печени и связанной с алкоголем жировой болезни печени [25]. Для ГЦК характерно снижение в кишечнике количества *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus* spp., при этом наблюдается увеличение числа *E. coli* [26].

В печень посредством портальной вены попадают различные кишечные метаболиты, в том числе микробные, которые могут вызвать воспалительные изменения и оказаться гепатотоксическими, поэтому потенциально могут способствовать канцерогенезу. Например, микробы, принадлежащие к кластерам *Clostridium* XI и XIV, модифицируют первичные желчные кислоты, продуцируемые печенью, до вторичных желчных кислот, таких как дезоксихолевая кислота, которая вызывает повреждение ДНК гепатоцитов [27]. VacA и CagA, продуцируемые *H. pylori*, были обнаружены в тканях печени с ГЦК [9]. ЛПС из *H. pylori* непосредственно способствует росту и миграции клеток рака печени за счёт повышения уровней ИЛ-8 и трансформирующего фактора роста- β 1 [9].

Кроме того, нарушение баланса первичных и вторичных желчных кислот изменяет аккумуляцию естественных клеток-киллеров в печени, которые могут предотвращать первичный и метастатиче-

ский рост опухоли на моделях мышей ($p < 0,05$) [28]. Дисбиоз кишечника коррелирует с высоким уровнем желчных кислот, включая дезоксихолевую кислоту, что может ускорять прогрессию опухоли за счёт усиления экспрессии генов *IL6* и *TNF α* , рекрутирования макрофагов в печень и активации TLR4, что было показано на мышинной модели. TLR4 усиливает активацию звездчатых клеток, которые опосредуют хемотаксис клеток Купфера и сенсibilизацию последних к сигналам трансформирующего фактора роста- β , что способствует фиброзу печени [29].

Микробиота при раке поджелудочной железы

Недавние исследования показали, что микробиота ЖКТ может влиять на канцерогенез поджелудочной железы [30]. *H. pylori* является значимым фактором риска аденокарциномы протоков поджелудочной железы, а также аутоиммунного, острого и хронического панкреатита [31]. Инфицирование *H. pylori* активирует транскрипционные факторы

NF- κ B и AP-1, вызывает повышение уровня ИЛ-8, что нарушает регуляцию клеточных процессов, вызывает воспаление и канцерогенез [19, 32]. ЛПС *H. pylori* вызывают мутации протоонкогена *KRAS*, которые наблюдаются в 85% случаев при аденокарциноме поджелудочной железы [33]. *H. pylori* активирует сигнальный белок STAT3, что усиливает экспрессию антиапоптотических и пролиферативных белков, таких как Bcl-xL, MCL-1, сурвивин, с-Мус и циклин D1 [34–36].

Активация Toll-подобных и Nod-подобных рецепторов микробными молекулярными паттернами поддерживает хроническое воспаление поджелудочной железы и вызывает активацию сигнальных путей NF- κ B и MAPK, что способствует развитию панкреатита и канцерогенезу [37]. Механизмы, посредством которых кишечная микробиота влияет на развитие рака поджелудочной железы, представлены на рис. 3.

N-3-оксододеcanoил-гомосерин, сигнальная молекула системы «чувства кворума» *Pseudomonas*

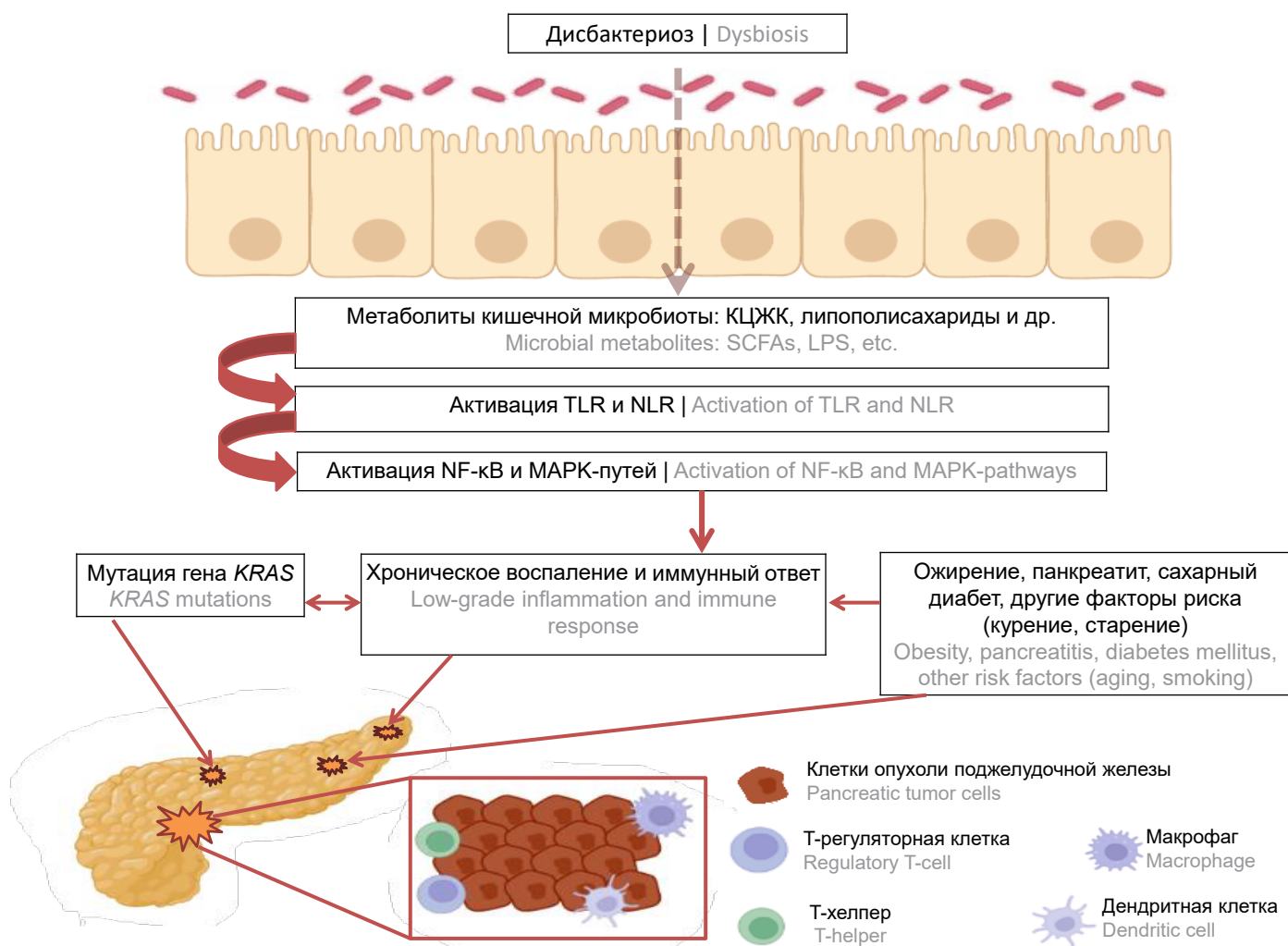


Рис. 3. Роль кишечной микробиоты в развитии рака поджелудочной железы [30].
Fig. 3. The role of the intestinal microbiota in the development of pancreatic cancer [30].

aeruginosa, связываясь с экспрессируемым в клетках поджелудочной железы белком TAS2R38 (рецептор горького вкуса), повышает активность белка множественной лекарственной устойчивости 1 (ABCВ1), способствуя инвазии бактерий и метастазированию рака [38]. Бактерии, колонизирующие ротовую полость, при переносе в поджелудочную железу могут способствовать онкогенезу. Например, *Fusobacterium* spp. была обнаружена в опухолевой ткани в 8,8% случаев рака поджелудочной железы [39].

Роль микробиоты в развитии колоректального рака

Колоректальный рак (КРР) — распространённое заболевание, доля которого в структуре онкологической заболеваемости населения составляет 12,3%. В 2020 г. в России было зарегистрировано 68 264 новых случая КРР, а заболеваемость составила 46,61 на 100 тыс. населения [15].

КРР — один из первых видов рака, при котором была выявлена связь микробиоты с канцерогенезом [40]. Микробиота, способствующая развитию опухолей, существенно отличается от микробиоты здоровой слизистой ($p < 0,05$) [41]. В метаанализе по оценке микробиоты кишечника пациентов с КРР было показано увеличение содержания таких бактерий, как *Peptostreptococcus stomatis*, *Gemella morbillorum*, *Bacteroides fragilis*, *Parvimonas* spp., *F. nucleatum*, *Solobacterium moorei* и *Clostridium symbiosum*, по сравнению с флорой здоровых лиц [42]. Более того, в эксперименте микробиом больных КРР способен вызывать предопухолевые изменения у здоровых животных и усиливать индуцированный канцерогенез, что было показано в опыте с добавлением фекалий от пациентов с КРР в корм стерильным и нестерильным мышам, которым для индукции опухолей кишечника вводили азоксиметан. У большинства стерильных животных наблюдалось усиление пролиферации в тканях толстой кишки ($p < 0,05$), а у нестерильных — увеличение дисплазии и числа макроскопических полипов ($p < 0,01$) по сравнению с долей мышей, которым вводилась биота здоровых лиц [43].

По экспериментальным и клиническим данным, фактором развития КРР является дисбактериоз кишечной биоты [43, 44], который возникает при приеме антибиотиков [45]. Было выявлено повышение риска КРР при приеме пенициллина более чем за 1 год до постановки диагноза. Риск возрастал с увеличением числа назначенных курсов антибиотиков (> 10 курсов; ОР = 1,2; 95% ДИ 1,1–1,3) [46].

Влияние антибиотиков на микробиоту даже при краткосрочном применении может иметь длительный эффект, который со временем может способствовать более активному проявлению действия канцерогенных факторов. Применение антибиоти-

ков разных классов (бета-лактамов и фторхинолонов) статистически значимо ($p < 0,001$) увеличивает риск онкологических заболеваний кроветворной системы (множественной миеломы и лимфомы), пищеварительной системы (колоректального, гепатобилиарного рака, рака поджелудочной железы и желудка), а также лёгких и мочеполовой системы (рака предстательной железы (РПЖ), мочевого пузыря и почек) [47].

Ввиду того, что антибиотики изменяют состав и уменьшают общее разнообразие микробиоты человека, происходят индукция хронического воспаления, подавление дыхательной активности иммунных клеток и, следовательно, снижение их фагоцитарной активности [48], изменение тканеспецифического метаболизма [46].

Отдельные виды бактерий способны продуцировать токсины, которые провоцируют воспалительные реакции и повышают продукцию активных форм кислорода, например *B. fragilis* [49, 50], другие же (*F. nucleatum*) изменяют сигнальные пути или снижают эффективность противоопухолевых иммунных факторов [51]. Так, изоформы матриксных металлопротеаз (BFT-1, BFT-2) *B. fragilis* активируют внутриклеточные сигнальные пути Ras/mTOR и p38 митоген-активируемой протеинкиназы. Металлопротеазы *B. fragilis* индуцируют экспрессию ингибитора белка апоптоза-2, что приводит к усилению роста опухоли и ингибированию апоптоза [52]. Токсины *B. fragilis* также увеличивают пролиферацию и проницаемость клеток кишечника, индуцируя экспрессию с-туса после расщепления Е-кадгерина и локализации β-катенина в ядре [52]. Более того, энтеротоксигенный *B. fragilis* способствует эпигенетическим изменениям и повреждению ДНК, индуцируя рекрутирование ДНК-метилтрансферазы 1, а также содержащую домен JmjC гистоновую деметилазу 2В в клетках КРР [52].

Связывание адгезина А *F. nucleatum* (FadA) с Е-кадгеринном способствует активации пути β-catenin–Wnt и усиливает синтез аннексина А1, который стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток. FadA также обладает амилоидоподобными свойствами, что усиливает адгезию *F. nucleatum* к раковым клеткам [52]. Белок-ауто-транспортёр 2 *F. nucleatum* (Fap2) связывает d-галактозу-β(1-3)-N-ацетил-d-галактозамин на раковых клетках и рекрутирует *F. nucleatum* в опухоли. Fap2 также связывается с иммунорецептором Т-клеток с помощью доменов ингибирующего мотива на основе иммуноглобулина и иммунорецептора на основе тирозина и снижает цитотоксичность Т-клеток и естественных клеток-киллеров, способствуя их гибели, что приводит к выходу опухоли из-под иммунологического контроля [52]. ЛПС *F. nucleatum* индуцирует экспрессию микроРНК-21 в эпители-

альных клетках толстой кишки TLR4-зависимым образом, что вызывает неконтролируемую клеточную пролиферацию и рост опухоли [52].

Штаммы *E. coli*, синтезирующие поликетид-синтазу (pks^+), могут вырабатывать генотоксичные метаболиты [52]. Так, колибактин, связываясь с ДНК, образует поперечные связи ДНК и межпочечные разрывы, которые нарушают регуляцию клеточного деления и усиливают мутагенез. Специфичная для колибактина мутационная сигнатура, характеризующаяся одноосновными заменами, делециями и вставками в T-сайтах, характерна при KPP [52].

Роль микробиоты в развитии рака лёгкого

Рак трахеи, бронхов и лёгкого занимает 3-е место в структуре онкологической заболеваемости населения в целом (9,8%) и 1-е место у мужчин (16,5%). В 2020 г. в России заболеваемость составила 37,13 случая на 100 тыс. лиц мужского пола [15]. Основными факторами риска развития рака лёгкого являются курение, загрязнение окружающей среды, канцерогенные производственные воздействия. По последним данным, не исключено и воздействие кишечной микробиоты [53–55].

Между дыхательной и пищеварительной системами имеется взаимосвязь, образующая ось «кишечник–лёгкие». Перенос микробиоты ЖКТ в лёгкие возможен при аспирации желудочно-пищеводного содержимого (например, при рвоте), существует также связь лёгких и кишечника через кровеносную и лимфатическую системы.

При раке лёгкого существенно меняется состав кишечной микробиоты. По данным Н. Zhuang и соавт., повышенное содержание бактерий рода *Enterococcus* в кишечной микробиоте ассоциировано с возникновением рака лёгких ($p = 0,0187$) [56]. У пациентов с раком лёгких более низкое содержание бактерий рода *Kluyvera*, *Escherichia*, *Shigella* и *Enterobacter*, а также фирмикутных бактерий рода *Dialister* и *Faecalibacterium*, в то время как количество бактерий рода *Veillonella*, *Fusobacterium* и *Bacteroides* значительно выше по сравнению со здоровыми людьми ($p < 0,05$) [57]. Снижение численности бутират-продуцирующих бактерий кишечной микробиоты (*Clostridium leptum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus*) характерно для пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого ($p = 0,001$) [58]. Высокое содержание бактерий *Bacillus* и *Akkermansia muciniphila* в кишечной микробиоте увеличивает риск возникновения рака лёгких ($p < 0,05$) [59]. Количество *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Rikenellaceae*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Oscillospira* и *Bacteroides plebius* значительно выше в кишечной биоте у пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого, чем у здоровых людей ($p < 0,05$) [60].

Механизмы влияния кишечной микробиоты на онкогенез в лёгких разнообразны. КЦЖК, являясь продуктами метаболизма кишечной микробиоты и действуя в лёгких как сигнальные молекулы, регулируют функции иммунных клеток и снижают интенсивность воспалительных и аллергических реакций [31]. В то же время на мышинных моделях установлено, что некоторые бактерии, колонизирующие лёгкие, способны стимулировать продукцию ИЛ-1 β и ИЛ-23 миелоидными клетками через MyD88-зависимый сигнальный путь. Это, в свою очередь, приводит к пролиферации и активации $\gamma\delta$ -T-лимфоцитов с последующим повышением продукции эффекторных молекул, таких как ИЛ-17 и др., что приводит к воспалению и пролиферации клеток опухоли [61].

В опухолях лёгких мышей при культивировании были выделены представители рода *Lactobacillus* (*L. murinus*, *L. reuteri*), *Streptococcus* (*S. acidominimus*), а также *Aneurinibacillus aneurinolyticus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium acnes*, *Brevibacterium massiliense*, *Microbacterium lacticum*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Acinetobacter radioresistens*, *Staphylococcus* [61].

Помимо воздействия на иммунные и воспалительные реакции, метаболиты бактерий в лёгких могут оказывать генотоксичный эффект [32]. Например, *E. faecalis* способствует повышенной секреции макрофагами 4-гидроксиноненаля, являющегося высокорепактивным альдегидом, повреждающим ДНК [62]. Бактерии рода *Fusobacterium* оказывают генотоксичный эффект, образуя сероводород [63], а *Bacteroides* — за счёт генерации активных форм кислорода [64]. Бактериальные белковые токсины, такие как цитолетальный разрыхляющий токсин, цитотоксический некротизирующий фактор, вызывают двупочечные разрывы ДНК, а колибактин проявляет канцерогенный эффект за счёт алкилирования ДНК [65].

Таким образом, изменения кишечной микробиоты у пациентов с раком лёгких характеризуются снижением численности бактерий нормальной микробиоты, увеличением численности условно-патогенных бактерий, а также снижением соотношения *Bacteroidetes/Firmicutes*, что, в свою очередь, сокращает количество циркулирующих КЦЖК, индуцирующих апоптоз, и уменьшает интенсивность иммунных и воспалительных реакций [53].

Микробиота при раке молочной железы

В России рак молочной железы (РМЖ) занимает 1-е место в структуре онкологической заболеваемости у женщин (21,7%) при показателе заболеваемости 82,77 на 100 тыс. лиц женского пола [15]. Факторами риска РМЖ являются возраст 40–60 лет, наследственная предрасположенность (мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*), поздние первые роды

(после 30 лет), гормонально-активные опухоли яичников, лечение эстрогенами (70% случаев РМЖ относятся к эстроген-рецептор-положительному подтипу) [66], чрезмерное употребление алкоголя и жирной молочной продукции, курение.

Предполагается, что микробиота кишечника может влиять на развитие злокачественных новообразований молочной железы (или же препятствовать их возникновению), действуя:

1) на метаболизм стероидов, в частности, за счёт своей способности изменять профиль циркулирующих эстрогенов [67]. Бактерии кишечника, способные метаболизировать эстрогены (так называемый эстроболом), выделяют β -глюкуронидазу и β -глюкозидазу, которые деконъюгируют выделенные с желчью эстрогены и способствуют их реабсорбции в кровоток. После деконъюгации свободный эстроген транспортируется в дистальные участки (включая нижний отдел репродуктивной сферы), где он связывается с эстрогеновыми рецепторами и запускает внутриклеточную передачу сигналов [68]. Многие бактерии с β -глюкуронидазной активностью встречаются в 2 доминирующих подгруппах, а именно в кластерах *Clostridium leptum* и *coccoides*, которые принадлежат к филуму *Firmicutes*. Бактерии из родов *Escherichia* и *Shigella*, относящиеся к филуму *Proteobacteria*, также обладают ферментом β -глюкуронидазой [69]. Бактерии рода *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp., *Roseburia* spp., *Bifidobacterium* spp. обладают β -глюкозидазной активностью [69];

2) на энергетический обмен, замедление которого приводит к ожирению, повышающему риск злокачественных новообразований. Микробиота участвует в синтезе КЦЖК и вторичных солей желчных кислот, которые регулируют энергетический обмен [70];

3) на противоопухолевый иммунитет [19]. Например, КЦЖК бактерий бутират и пропионат способны ингибировать гистоновые деацетилазы опухолевых клеток хозяина. ЛПС, основной компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий, активирует TLR4 на поверхности клетки хозяина, таким образом, рекрутируя Т-клетки против опухолевых клеток. Более того, пиридоксин (витамин В₆) бактериального происхождения может стимулировать противоопухолевый иммунный надзор хозяина ($p < 0,05$) [20].

Таким образом, микробиота кишечника оказывает разнонаправленное действие на риск возникновения РМЖ в зависимости от количественного и качественного её состава.

Участие микробиоты в развитии рака эндометрия

Уровни циркулирующего эстрогена в организме человека зависят от микробиоты кишечника

[71], что позволяет вводить понятие оси «кишечник–влагалище», опосредованной эстрогеном [68]. Эстроболом деконъюгирует выделенные с желчью эстрогены и способствует их реабсорбции в кровоток [68]. В соответствии с фундаментальной ролью эстрогенов и прогестагенов в росте эндометрия фактором риска рака эндометрия является избыток эстрогенов или же более активная передача сигналов эстрогена, которой не противостоит передача сигналов прогестерона [72].

Циркулирующие неактивные стероиды также превращаются в биологически активные эстрогены с помощью печёночной сульфатазы [73]. Предположительно, кишечные бактерии *B. fragilis* и *thetaitotaomicron*, *A. muciniphila* [74–76], обладающие сульфатазной активностью, способны гидролизовать молекулы эстрогена, которые подверглись сульфатации в печени и выведению с желчью в ЖКТ, что тоже может влиять на системные уровни эстрогена [67].

Тем не менее уровень эстрогена у женщин в постменопаузе не зависит от микробиоты или активности глюкуронидазы [5]. Следует отметить, что дисбактериоз может привести к уменьшению количества бактерий, обладающих глюкуронидазной активностью, что приводит к меньшей деконъюгации эстрогенов и фитоэстрогенов до их активных форм. Снижение уровня эстрогена влияет на активацию рецепторов эстрогена, что может привести к гиперэстрогенным заболеваниям, отличным от онкологических: ожирению, метаболическому синдрому, сердечно-сосудистым заболеваниям и снижению когнитивных способностей [5].

Микробиота при раке предстательной железы

В онкологической заболеваемости мужчин РПЖ занимает 2-е место (14,8%) с показателем 56,22 случая на 100 тыс. мужчин [15]. Его этиология остаётся малоизвестной. К числу идентифицированных факторов риска РПЖ относят пожилой возраст, наличие случаев РПЖ в семье и некоторые варианты генетической чувствительности, что в совокупности объясняет около трети случаев, связанных с семейными факторами.

Обнаружено, что количество видов *Streptococcus* и *Bacteroides* выше у мужчин с РПЖ [77]. Метагеномный анализ показал, что фолатные и аргининовые пути в микробиоме кишечника были значительно изменены. В исследовании, в котором анализировалась микробиота кишечника 20 мужчин (8 с доброкачественной гипертрофией предстательной железы и 12 с РПЖ высокого риска), был выявлен повышенный уровень *Bacteroides massiliensis* по сравнению с контрольной группой [78]. Анализ микробиома кишечника 152 японских мужчин, перенёвших биопсию предстательной железы, по-

казал, что количество *Rikenellaceae*, *Alistipes* и *Lachnospira*, т.е. бактерий, продуцирующих КЦЖК, было значительно увеличено у больных РПЖ с высоким значением грейда по шкале Глисона [79].

При повышении уровней бактериальных ЛПС в крови они связываются с транспортной молекулой CD14 и в дальнейшем с основным рецептором ЛПС — TLR4. TLR4 экспрессируется в опухоли предстательной железы человека. На лабораторных моделях РПЖ показано, что активация TLR4 ЛПС способствует выживанию опухолевых клеток в условиях нехватки питательных веществ в сыворотке, а также индуцирует выработку фактора роста эндотелия сосудов и CCL2 (C-C motif ligand 2) [80]. Передача сигналов ЛПС через рецептор TLR4 активирует NF-κB, который опосредует транскрипцию различных соединений, связанных со стрессом, и усиливается при агрессивном РПЖ [81]. ЛПС *E. coli* вызывает более сильное воспаление, чем ЛПС других бактерий, а *Bacteroidales* spp. подавляют провоспалительную передачу сигналов ЛПС за счёт антагонистической формы ЛПС [80]. Для распознавания бактериальных ЛПС с помощью TLR4 необходим ко-рецептор MD2, имеющий разное строение у людей и мышей, что обуславливает разную реакцию (провоспалительную или противовоспалительную) на одни ЛПС. Однако на мышечных моделях ЛПС *Bacteroides dorei*, как и у людей, проявляет противовоспалительную активность, что даёт основания предположить отсутствие связи неиммуногенности *B. dorei* со строением MD2. Таким образом, точный механизм опосредованного ЛПС антагонизма ещё не установлен [82].

В ретроспективном исследовании были проанализированы данные 27 212 больных РПЖ и 105 940 контрольных лиц. Риск развития РПЖ статистически значимо повышался при применении пенициллина и хинолонов, сульфаниламидов и тетрациклинов (OR = 1,2; 95% ДИ 1,1–1,3) [46]. Как уже говорилось выше, антибиотики не обладают прямым канцерогенным действием, но они влияют на состав микробиоты. Этим объясняется их опосредованный канцерогенный эффект, который реализуется при длительном повторном использовании в связи с изменением бактериального разнообразия.

C.S. Plottel и соавт. выдвинули гипотезу, согласно которой эстроболом связан с риском развития РПЖ [71] на основании того, что рецепторы эстрогена-α и -β присутствуют при некоторых видах РМЖ, РПЖ, рака эндометрия, костей и лёгких [83].

Заключение

Имеющиеся данные демонстрируют наличие определённой связи между количественным и качественным состоянием микробиоты ЖКТ и риском развития опухолевых заболеваний. Бактерии модулируют иммунные и воспалительные реакции,

а также вырабатывают метаболиты, изменяющие биохимические процессы, что в конечном итоге влияет на канцерогенез. Нормальная микробиота тормозит альтерацию тканей, в то время как патогенные и условно-патогенные микроорганизмы нарушают нормально протекающие процессы и увеличивают риск возникновения злокачественных новообразований.

К настоящему времени наиболее изучены связи микробиоты ЖКТ и опухолей пищевода, желудка и кишечника, однако существуют данные, свидетельствующие о том, что микробиота ЖКТ может влиять на канцерогенез и в других органах. Несмотря на то что микробиота других органов представляет собой значительно меньшую биомассу, она также может воздействовать на развитие опухолей посредством модуляции физиологических и биохимических процессов, а также взаимодействия с кишечной микробиотой.

Особую роль в медицинской науке и практике приобретает превентивная медицина. В этом аспекте следует отметить, что скрининг состава микробиоты может помочь выявить пациентов с повышенным риском возникновения новообразований, а модуляция микробиоты у них позволит предотвратить возникновение опухоли.

Ещё многое предстоит узнать о механизмах, лежащих в основе взаимодействия кишечной микробиоты и макроорганизма, а также об оптимальных стратегиях модуляции микробиоты кишечника или других органов для разработки мероприятий по лечению и профилактике онкологических заболеваний. На сегодняшний день наука находится в начале непростого пути изучения сложного взаимодействия микробиоты и макроорганизма, но уже имеющиеся данные указывают на широкие перспективы использования результатов исследований в медицинской практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Dehghani M., Kazemi Shariat Panahi H., Heng B., Guillemin G.J. The gut microbiota, kynurenine pathway, and immune system interaction in the development of brain cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.562812>
2. Dehghani M., Kazemi Shariat Panahi H., Guillemin G.J. Microorganisms, tryptophan metabolism, and kynurenine pathway: a complex interconnected loop influencing human health status. *Int. J. Tryptophan Res.* 2019; 12: 1178646919852996. <https://doi.org/10.1177/1178646919852996>
3. Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C.M., Finlay B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 2010; 90(3): 859–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
4. Mirzaei R., Afaghi A., Babakhani S., Sohrabi M.R., Hosseini-Fard S.R., Babolhavaeji K., et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 139: 111619. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111619>
5. Sobstyl M., Brecht P., Sobstyl A., Mertowska P., Grywalska E. The role of microbiota in the immunopathogenesis of endome-

- trial cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(10): 5756. <https://doi.org/10.3390/ijms23105756>
6. Helmi B.A., Khan M.A.W., Hermann A., Gopalakrishnan V., Wargo J.A. The microbiome, cancer, and cancer therapy. *Nat. Med.* 2019; 25(3): 377–88. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0377-7>
 7. Yang L., Lu X., Nossa C.W., Francois F., Peek R.M., Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology*. 2009; 137(2): 588–97. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.046>
 8. Gall A., Fero J., McCoy C., Claywell B.C., Sanchez C.A., Blount P.L., et al. Bacterial composition of the human upper gastrointestinal tract microbiome is dynamic and associated with genomic instability in a Barrett's esophagus cohort. *PLoS One*. 2015; 10(6): e0129055 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129055>
 9. Meng C., Bai C., Brown T.D., Hood L.E., Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics. Proteomics Bioinformatics*. 2018; 16(1): 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2017.06.002>
 10. Yang L., Francois F., Pei Z. Molecular pathways: pathogenesis and clinical implications of microbiome alteration in esophagitis and Barrett esophagus. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18(8): 2138–44. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0934>
 11. Zhou J., Sun S., Luan S., Xiao X., Yang Y., Mao C., et al. Gut microbiota for esophageal cancer: role in carcinogenesis and clinical implications. *Front. Oncol.* 2021; 11: 717242. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.717242>
 12. Yamamura K., Baba Y., Nakagawa S., Mima K., Miyake K., Nakamura K., et al. Human microbiome fusobacterium nucleatum in esophageal cancer tissue is associated with prognosis. *Clin. Cancer Res.* 2016; 22(22): 5574–81. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1786>
 13. Li K., Liu J., Qin X. Research progress of gut microbiota in hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Lab. Anal.* 2022; 36(7): e24512. <https://doi.org/10.1002/jcla.24512>
 14. Shlapakova T.I., Kostin R.K., Tyagunova E.E. Reactive oxygen species: participation in cellular processes and progression of pathology. *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2020; 46(5): 657–74. <https://doi.org/10.1134/S1068162020050222>
 15. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность)*. М.; 2021.
 16. Dias-Jácome E., Libânio D., Borges-Canha M., Galagher A., Pimentel-Nunes P. Gastric microbiota and carcinogenesis: the role of non-*Helicobacter pylori* bacteria – A systematic review. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2016; 108(9): 530–40. <https://doi.org/10.17235/reed.2016.4261/2016>
 17. Liu S., Dai J., Lan X., Fan B., Dong T., Zhang Y., et al. Intestinal bacteria are potential biomarkers and therapeutic targets for gastric cancer. *Microb. Pathog.* 2021; 151: 104747. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104747>
 18. Bik E.M., Eckburg P.B., Gill S.R., Nelson K.E., Purdom E.A., Francois F., et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(3): 732–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506655103>
 19. Shapira I., Sultan K., Lee A., Taioli E. Evolving concepts: how diet and the intestinal microbiome act as modulators of breast malignancy. *ISRN Oncol.* 2013; 2013: 693920. <https://doi.org/10.1155/2013/693920>
 20. Vivarelli S., Salemi R., Candido S., Falzone L., Santagati M., et al. Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(1): 38. <https://doi.org/10.3390/cancers11010038>
 21. Liu N., Zhou N., Chai N., Liu X., Jiang H., Wu Q., et al. *Helicobacter pylori* promotes angiogenesis depending on Wnt/ β -catenin-mediated vascular endothelial growth factor via the cyclooxygenase-2 pathway in gastric cancer. *BMC Cancer*. 2016; 16: 321. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2351-9>
 22. Song X., Xin N., Wang W., Zhao C. Wnt/ β -catenin, an oncogenic pathway targeted by *H. pylori* in gastric carcinogenesis. *Oncotarget*. 2015; 6(34): 35579–88. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5758>
 23. Nakayama M., Hisatsune J., Yamasaki E., Isomoto H., Kurazono H., Hatakeyama M., et al. *Helicobacter pylori* VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(3): 1612–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806981200>
 24. Tao Z.H., Han J.X., Fang J.Y. *Helicobacter pylori* infection and eradication: exploring their impacts on the gastrointestinal microbiota. *Helicobacter*. 2020; 25(6): e12754. <https://doi.org/10.1111/hel.12754>
 25. Doorackers E., Lagergren J., Engstrand L., Brusselsaers N. Eradication of *Helicobacter pylori* and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016; 108(9): djw132. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw132>
 26. Milosevic I., Vujovic A., Barac A., Djelic M., Korac M., Radovanovic Spurnic A., et al. Gut-liver axis, gut microbiota, and its modulation in the management of liver diseases: a review of the literature. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(2): 395. <https://doi.org/10.3390/ijms20020395>
 27. Yoshimoto S., Loo T.M., Atarashi K., Kanda H., Sato S., Oyadomari S., et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature*. 2013; 499(7456): 97–101. <https://doi.org/10.1038/nature12347>
 28. Ma C., Han M., Heinrich B., Fu Q., Zhang Q., Sandhu M., et al. Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. *Science*. 2018; 360(6391): eaan5931. <https://doi.org/10.1126/science.aan5931>
 29. Seki E., De Minicis S., Osterreicher C.H., Kluwe J., Osawa Y., Brenner D.A., et al. TLR4 enhances TGF- β signaling and hepatic fibrosis. *Nat. Med.* 2007; 13(11): 1324–32. <https://doi.org/10.1038/nm1663>
 30. Li Q., Jin M., Liu Y., Jin L. Gut microbiota: its potential roles in pancreatic cancer. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10: 572492. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572492>
 31. Cait A., Hughes M.R., Antignano F., Cait J., Dimitriu P.A., Maas K.R., et al. Microbiome-driven allergic lung inflammation is ameliorated by short-chain fatty acids. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(3): 785–95. <https://doi.org/10.1038/mi.2017.75>
 32. Wilson M.R., Jiang Y., Villalta P.W., Stornetta A., Boudreau P.D., Carrá A., et al. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science*. 2019; 363(6428): eaar7785. <https://doi.org/10.1126/science.aar7785>
 33. di Magliano M.P., Logsdon C.D. Roles for KRAS in pancreatic tumor development and progression. *Gastroenterology*. 2013; 144(6): 1220–9. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.01.071>
 34. Lesina M., Kurkowski M.U., Ludes K., Rose-John S., Treiber M., Klöppel G., et al. Stat3/Socs3 activation by IL-6 transsignaling promotes progression of pancreatic intraepithelial neoplasia and development of pancreatic cancer. *Cancer Cell*. 2011; 19(4): 456–69. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.03.009>
 35. Yu H., Pardoll D., Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat. Rev. Cancer*. 2009; 9(11): 798–809. <https://doi.org/10.1038/nrc2734>
 36. Fukuda A., Wang S.C., Morris J.P. 4th, Folias A.E., Liou A., Kim G.E., et al. Stat3 and MMP7 contribute to pancreatic ductal adenocarcinoma initiation and progression. *Cancer Cell*. 2011; 19(4): 441–55. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.03.002>
 37. Moyat M., Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(19): 5583–93. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i19.5583>
 38. Gaida M.M., Mayer C., Dapunt U., Stegmaier S., Schirmacher P., Wabnitz G.H., et al. Expression of the bitter receptor T2R38 in pancreatic cancer: localization in lipid droplets and

- activation by a bacteria-derived quorum-sensing molecule. *Oncotarget*. 2016; 7(11): 12623–32. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7206>
39. Mitsuhashi K., Noshō K., Sukawa Y., Matsunaga Y., Ito M., Kurihara H., et al. Association of Fusobacterium species in pancreatic cancer tissues with molecular features and prognosis. *Oncotarget*. 2015; 6(9): 7209–20. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3109>
40. Yang Y., Jobin C. Novel insights into microbiome in colitis and colorectal cancer. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2017; 33(6): 422–7. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000399>
41. Lu Y., Chen J., Zheng J., Hu G., Wang J., Huang C., et al. Mucosal adherent bacterial dysbiosis in patients with colorectal adenomas. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26337. <https://doi.org/10.1038/srep26337>
42. Avuthu N., Guda C. Meta-analysis of altered gut microbiota reveals microbial and metabolic biomarkers for colorectal cancer. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(4): e0001322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00013-22>
43. Wong S.H., Zhao L., Zhang X., Nakatsu G., Han J., et al. Gavage of fecal samples from patients with colorectal cancer promotes intestinal carcinogenesis in germ-free and conventional mice. *Gastroenterology*. 2017; 153(6): 1621–33.e6. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.022>
44. Gao Z., Guo B., Gao R., Zhu Q., Qin H. Microbiota disbiosis is associated with colorectal cancer. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00020>
45. Ternák G., Berényi K., Sümegi A., Szenczi Á., Fodor B., Németh B., et al. Antibiotic consumption patterns in European countries may be associated with the incidence of major carcinomas. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(10): 643. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100643>
46. Boursi B., Mamtani R., Haynes K., Yang Y.X. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation – another step in understanding the role of the human microbiota? *Eur. J. Cancer*. 2015. 51(17): 2655–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.015>
47. Petrelli F., Ghidini M., Ghidini A., Perego G., Cabiddu M., Khakoo S., et al. Use of antibiotics and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(8): 1174. <https://doi.org/10.3390/cancers11081174>
48. Yang J.H., Bhargava P., McCloskey D., Mao N., Palsson B.O., Collins J.J. Antibiotic-induced changes to the host metabolic environment inhibit drug efficacy and alter immune function. *Cell Host Microbe*. 2017; 22(6): 757–65.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.10.020>
49. Purcell R.V., Pearson J., Aitchison A., Dixon L., Frizelle F.A., Keenan J.I. Colonization with enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* is associated with early-stage colorectal neoplasia. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171602>
50. Mangerich A., Knutson C.G., Parry N.M., Muthupalani S., Ye W., Prestwich E., et al. Infection-induced colitis in mice causes dynamic and tissue-specific changes in stress response and DNA damage leading to colon cancer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(27): E1820–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1207829109>
51. Rubinstein M.R., Baik J.E., Lagana S.M., Han R.P., Raab W.J., Sahoo D., et al. Fusobacterium nucleatum promotes colorectal cancer by inducing Wnt/β-catenin modulator Annexin A1. *EMBO Rep*. 2019; 20(4): e47638. <https://doi.org/10.15252/embr.201847638>
52. Clay S.L., Fonseca-Pereira D., Garrett W.S. Colorectal cancer: the facts in the case of the microbiota. *J. Clin. Invest.* 2022; 132(4): e155101. <https://doi.org/10.1172/JCI155101>
53. Liu X., Cheng Y., Zang D., Zhang M., Li X., Liu D., et al. The role of gut microbiota in lung cancer: from carcinogenesis to immunotherapy. *Front. Oncol.* 2021; 11: 720842. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.720842>
54. Zhao Y., Liu Y., Li S., Peng Z., Liu X., Chen J., et al. Role of lung and gut microbiota on lung cancer pathogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2021; 147(8): 2177–186. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03644-0>
55. Georgiou K., Marinov B., Farooqi A.A., Gazouli M. Gut microbiota in lung cancer: where do we stand? *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(19): 10429. <https://doi.org/10.3390/ijms221910429>
56. Zhuang H., Cheng L., Wang Y., Zhang Y.K., Zhao M.F., Liang G.D., et al. Dysbiosis of the gut microbiome in lung cancer. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9: 112. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00112>
57. Zhang W.Q., Zhao S.K., Luo J.W., Dong X.P., Hao Y.T., Li H., et al. Alterations of fecal bacterial communities in patients with lung cancer. *Am. J. Transl. Res.* 2018; 10(10): 3171–85.
58. Gui Q., Li H., Wang A., Zhao X., Tan Z., Chen L., et al. The association between gut butyrate-producing bacteria and non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Lab. Anal.* 2020; 34(8): e23318. <https://doi.org/10.1002/jcla.23318>
59. Zheng Y., Fang Z., Xue Y., Zhang J., Zhu J., Gao R., et al. Specific gut microbiome signature predicts the early-stage lung cancer. *Gut Microbes*. 2020; 11(4): 1030–42. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1737487>
60. Botticelli A., Putignani L., Zizzari I., Del Chierico F., Reddel S., Di Pietro F., et al. Changes of microbiome profile during nivolumab treatment in NSCLC patients. *J. Clin. Oncol.* 2018; 36(15 Suppl.): e15020. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.e15020
61. Jin C., Lagoudas G.K., Zhao C., Bullman S., Bhutkar A., Hu B., et al. Commensal microbiota promote lung cancer development via γδ T cells. *Cell*. 2019; 176(5): 998–1013.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.040>
62. Yang Y., Wang X., Huycke T., Moore D.R., Lightfoot S.A., Huycke M.M. Colon macrophages polarized by commensal bacteria cause colitis and cancer through the bystander effect. *Transl. Oncol.* 2013; 6(5): 596–606. <https://doi.org/10.1593/tlo.13412>
63. Ridlon J.M., Wolf P.G., Gaskins H.R. Taurocholic acid metabolism by gut microbes and colon cancer. *Gut Microbes*. 2016; 7(3): 201–15. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1150414>
64. Goodwin A.C., Destefano Shields C.E., Wu S., Huso D.L., Wu X., Murray-Stewart T.R., et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2011; 108(37): 15354–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010203108>
65. Zhang Z., Aung K.M., Uhlin B.E., Wai S.N. Reversible senescence of human colon cancer cells after blockage of mitosis/cytokinesis caused by the CNF1 cyclomodulin from *Escherichia coli*. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 17780. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36036-5>
66. Parida S., Sharma D. The microbiome-estrogen connection and breast cancer risk. *Cells*. 2019; 8(12): 1642. <https://doi.org/10.3390/cells8121642>
67. Kwa M., Plottel C.S., Blaser M.J., Adams S. The intestinal microbiome and estrogen receptor-positive female breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016; 108(8): djw029. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw029>
68. Flores R., Shi J., Fuhrman B., Xu X., Veenstra T.D., Gail M.H., et al. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: a cross-sectional study. *J. Transl. Med.* 2012; 10: 253. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-253>
69. Dabek M., McCrae S.I., Stevens V.J., Duncan S.H., Louis P. Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene in human colonic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008; 66(3): 487–95. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00520.x>
70. Duarte L., Gasaly N., Poblete-Aro C., Uribe D., Echeverria F., Gotteland M., et al. Polyphenols and their anti-obesity role me-

- diated by the gut microbiota: a comprehensive review. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2021; 22(2): 367–88. <https://doi.org/10.1007/s11154-020-09622-0>
71. Plottel C.S., Blaser M.J. Microbiome and malignancy. *Cell Host Microbe.* 2011; 10(4): 324–35. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.003>
 72. Rodriguez A.C., Blanchard Z., Maurer K.A., Gertz J. Estrogen signaling in endometrial cancer: a key oncogenic pathway with several open questions. *Horm. Cancer.* 2019; 10(2–3): 51–63. <https://doi.org/10.1007/s12672-019-0358-9>
 73. Raftogianis R., Creveling C., Weinshilboum R., Weisz J. Estrogen metabolism by conjugation. *J. Natl Cancer Inst. Monogr.* 2000; (27): 113–24. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a024234>
 74. Luis A.S., Jin C., Pereira G.V., Glowacki R.W.P., Gugel S.R., Singh S., et al. A single sulfatase is required to access colonic mucin by a gut bacterium. *Nature.* 2021; 598(7880): 332–7. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03967-5>
 75. Li C.C., Tang X.Y., Zhu Y.B., Song Y.J., Zhao N.L., Huang Q., et al. Structural analysis of the sulfatase AmAS from Akkermansia muciniphila. *Acta Crystallogr. D Struct. Biol.* 2021; 77(Pt. 12): 1614–23. <https://doi.org/10.1107/S2059798321010317>
 76. Praharaj A.B., Dehury B., Mahapatra N., Kar S.K., Behera S.K. Molecular dynamics insights into the structure, function, and substrate binding mechanism of mucin desulfating sulfatase of gut microbe Bacteroides fragilis. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(4): 3618–31. <https://doi.org/10.1002/jcb.26569>
 77. Liss M.A., White J.R., Goros M., Gelfond J., Leach R., Johnson-Pais T., et al. Metabolic biosynthesis pathways identified from fecal microbiome associated with prostate cancer. *Eur. Urol.* 2018; 74(5): 575–82. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.06.033>
 78. Golombos D.M., Ayangbesan A., O'Malley P., Lewicki P., Barlow L., Barbieri C.E., et al. The role of gut microbiome in the pathogenesis of prostate cancer: a prospective, pilot study. *Urology.* 2018; 111: 122–8. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.08.039>
 79. Fujita K., Matsushita M., Banno E., De Velasco M.A., Hatanokawa K., Nonomura N., et al. Gut microbiome and prostate cancer. *Int. J. Urol.* 2022; 29(8): 793–8. <https://doi.org/10.1111/iju.14894>
 80. Wheeler K.M., Liss M.A. The microbiome and prostate cancer risk. *Curr. Urol. Rep.* 2019; 20(10): 66. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0922-4>
 81. Jain S., Suklabaidya S., Das B., Raghav S.K., Batra S.K., Senapati S. TLR4 activation by lipopolysaccharide confers survival advantage to growth factor deprived prostate cancer cells. *Prostate.* 2015; 75(10): 1020–33. <https://doi.org/10.1002/pros.22983>
 82. Vatanen T., Kostic A.D., d'Hennezel E., Siljander H., Franzosa E.A., Yassour M., et al. Variation in microbiome lps immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell.* 2016; 165(4): 842–53. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.007>
 83. Kuiper G.G., Enmark E., Pelto-Huikko M., Nilsson S., Gustafsson J.A. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1996; 93(12): 5925–30. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.5925>
 84. Pinato D.J., Howlett S., Ottaviani D., Urus H., Patel A., Mineo T., et al. Association of prior antibiotic treatment with survival and response to immune checkpoint inhibitor therapy in patients with cancer. *JAMA Oncol.* 2019; 5(12): 1774–8. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.2785>
 85. Pushalkar S., Hundeyin M., Daley D., Zambirinis C.P., Kurz E., Mishra A., et al. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by induction of innate and adaptive immune suppression. *Cancer Discov.* 2018; 8(4): 403–16. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1134>
 86. Li Y., Elmen L., Segota I., Xian Y., Tinoco R., Feng Y., et al. Prebiotic-induced anti-tumor immunity attenuates tumor growth. *Cell Rep.* 2020; 30(6): 1753–66.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.035>
 87. Arthur J.C., Gharraibeh R.Z., Uronis J.M., Perez-Chanona E., Sha W., Tomkovich S., et al. VSL#3 probiotic modifies mucosal microbial composition but does not reduce colitis-associated colorectal cancer. *Sci. Rep.* 2013; 3: 2868. <https://doi.org/10.1038/srep02868>
 88. McQuade J.L., Daniel C.R., Helmink B.A., Wargo J.A. Modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer. *Lancet. Oncol.* 2019; 20(2): e77–e91. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30952-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30952-5)
 89. Matson V., Fessler J., Bao R., Chongsuwat T., Zha Y., Alegre M.L., et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science.* 2018; 359(6371): 104–8. <https://doi.org/10.1126/science.aao3290>

REFERENCES

1. Dehghani M., Kazemi Shariat Panahi H., Heng B., Guillemin G.J. The gut microbiota, kynurenine pathway, and immune system interaction in the development of brain cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.562812>
2. Dehghani M., Kazemi Shariat Panahi H., Guillemin G.J. Microorganisms, tryptophan metabolism, and kynurenine pathway: a complex interconnected loop influencing human health status. *Int. J. Tryptophan Res.* 2019; 12: 1178646919852996. <https://doi.org/10.1177/1178646919852996>
3. Sekirov I., Russell S.L., Antunes L.C.M., Finlay B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 2010; 90(3): 859–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
4. Mirzaei R., Afaghi A., Babakhani S., Sohrabi M.R., Hosseini-Fard S.R., Babolhavaeji K., et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 139: 111619. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111619>
5. Sobstyl M., Brecht P., Sobstyl A., Mertowska P., Grywalska E. The role of microbiota in the immunopathogenesis of endometrial cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(10): 5756. <https://doi.org/10.3390/ijms23105756>
6. Helmink B.A., Khan M.A.W., Hermann A., Gopalakrishnan V., Wargo J.A. The microbiome, cancer, and cancer therapy. *Nat. Med.* 2019; 25(3): 377–88. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0377-7>
7. Yang L., Lu X., Nossa C.W., Francois F., Peek R.M., Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology.* 2009; 137(2): 588–97. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.046>
8. Gall A., Fero J., McCoy C., Claywell B.C., Sanchez C.A., Blount P.L., et al. Bacterial composition of the human upper gastrointestinal tract microbiome is dynamic and associated with genomic instability in a Barrett's esophagus cohort. *PLoS One.* 2015; 10(6): e0129055. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129055>
9. Meng C., Bai C., Brown T.D., Hood L.E., Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics. Proteomics Bioinformatics.* 2018; 16(1): 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2017.06.002>
10. Yang L., Francois F., Pei Z. Molecular pathways: pathogenesis and clinical implications of the microbiome alteration in esophagitis and Barrett esophagus. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18(8): 2138–44. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0934>
11. Zhou J., Sun S., Luan S., Xiao X., Yang Y., Mao C., et al. Gut microbiota for esophageal cancer: role in carcinogenesis and clinical implications. *Front. Oncol.* 2021; 11: 717242. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.717242>

12. Yamamura K., Baba Y., Nakagawa S., Mima K., Miyake K., Nakamura K., et al. Human microbiome fusobacterium nucleatum in esophageal cancer tissue is associated with prognosis. *Clin. Cancer Res.* 2016; 22(22): 5574–81. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1786>
13. Li K., Liu J., Qin X. Research progress of gut microbiota in hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Lab. Anal.* 2022; 36(7): e24512. <https://doi.org/10.1002/jcla.24512>
14. Shlapakova T.I., Kostin R.K., Tyagunova E.E. Reactive oxygen species: participation in cellular processes and progression of pathology. *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2020; 46(5): 657–74. <https://doi.org/10.1134/S1068162020050222>
15. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadova A.O. *Malignant Neoplasms in Russia in 2020 (Morbidity and Mortality) [Zlo-kachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow, 2021. (in Russian)
16. Dias-Jácome E., Libânio D., Borges-Canha M., Galaghar A., Pimentel-Nunes P. Gastric microbiota and carcinogenesis: the role of non-*Helicobacter pylori* bacteria – A systematic review. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2016; 108(9): 530–40. <https://doi.org/10.17235/reed.2016.4261/2016>
17. Liu S., Dai J., Lan X., Fan B., Dong T., Zhang Y., et al. Intestinal bacteria are potential biomarkers and therapeutic targets for gastric cancer. *Microb. Pathog.* 2021; 151: 104747. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104747>
18. Bik E.M., Eckburg P.B., Gill S.R., Nelson K.E., Purdom E.A., Francois F., et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(3): 732–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506655103>
19. Shapira I., Sultan K., Lee A., Taioli E. Evolving concepts: how diet and the intestinal microbiome act as modulators of breast malignancy. *ISRN Oncol.* 2013; 2013: 693920. <https://doi.org/10.1155/2013/693920>
20. Vivarelli S., Salemi R., Candido S., Falzone L., Santagati M., et al. Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy. *Cancers (Basel).* 2019; 11(1): 38. <https://doi.org/10.3390/cancers11010038>
21. Liu N., Zhou N., Chai N., Liu X., Jiang H., Wu Q., et al. *Helicobacter pylori* promotes angiogenesis depending on Wnt/ β -catenin-mediated vascular endothelial growth factor via the cyclooxygenase-2 pathway in gastric cancer. *BMC Cancer.* 2016; 16: 321. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2351-9>
22. Song X., Xin N., Wang W., Zhao C. Wnt/ β -catenin, an oncogenic pathway targeted by *H. pylori* in gastric carcinogenesis. *Oncotarget.* 2015; 6(34): 35579–88. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5758>
23. Nakayama M., Hisatsune J., Yamasaki E., Isomoto H., Kurazono H., Hatakeyama M., et al. *Helicobacter pylori* VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(3): 1612–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806981200>
24. Tao Z.H., Han J.X., Fang J.Y. *Helicobacter pylori* infection and eradication: Exploring their impacts on the gastrointestinal microbiota. *Helicobacter.* 2020; 25(6): e12754. <https://doi.org/10.1111/hel.12754>
25. Doorackers E., Lagergren J., Engstrand L., Brusselaers N. Eradication of *Helicobacter pylori* and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016; 108(9): djw132. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw132>
26. Milosevic I., Vujovic A., Barac A., Djelic M., Korac M., Radovanovic Spurnic A., et al. Gut-liver axis, gut microbiota, and its modulation in the management of liver diseases: a review of the literature. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(2): 395. <https://doi.org/10.3390/ijms20020395>
27. Yoshimoto S., Loo T.M., Atarashi K., Kanda H., Sato S., Oyadomari S., et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature.* 2013; 499(7456): 97–101. <https://doi.org/10.1038/nature12347>
28. Ma C., Han M., Heinrich B., Fu Q., Zhang Q., Sandhu M., et al. Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. *Science.* 2018; 360(6391): eaan5931. <https://doi.org/10.1126/science.aan5931>
29. Seki E., De Minicis S., Osterreicher C.H., Kluwe J., Osawa Y., Brenner D.A., et al. TLR4 enhances TGF- β signaling and hepatic fibrosis. *Nat. Med.* 2007; 13(11): 1324–32. <https://doi.org/10.1038/nm1663>
30. Li Q., Jin M., Liu Y., Jin L. Gut microbiota: its potential roles in pancreatic cancer. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10: 572492. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572492>
31. Cait A., Hughes M.R., Antignano F., Cait J., Dimitriu P.A., Maas K.R., et al. Microbiome-driven allergic lung inflammation is ameliorated by short-chain fatty acids. *Mucosal Immunol.* 2018. 11(3): 785–95. <https://doi.org/10.1038/mi.2017.75>
32. Wilson M.R., Jiang Y., Villalta P.W., Stornetta A., Boudreau P.D., Carrá A., et al. The human gut bacterial genotoxin colibactin alkylates DNA. *Science.* 2019; 363(6428): eaar7785. <https://doi.org/10.1126/science.aar7785>
33. di Magliano M.P., Logsdon C.D.. Roles for KRAS in pancreatic tumor development and progression. *Gastroenterology.* 2013; 144(6): 1220–9. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.01.071>
34. Lesina M., Kurkowski M.U., Ludes K., Rose-John S., Treiber M., Klöppel G., et al. Stat3/Socs3 activation by IL-6 transsignaling promotes progression of pancreatic intraepithelial neoplasia and development of pancreatic cancer. *Cancer Cell.* 2011; 19(4): 456–69. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.03.009>
35. Yu H., Pardoll D., Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9(11): 798–809. <https://doi.org/10.1038/nrc2734>
36. Fukuda A., Wang S.C., Morris J.P. 4th, Folias A.E., Liou A., Kim G.E., et al. Stat3 and MMP7 contribute to pancreatic ductal adenocarcinoma initiation and progression. *Cancer Cell.* 2011; 19(4): 441–55. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.03.002>
37. Moyat M., Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(19): 5583–93. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i19.5583>
38. Gaida M.M., Mayer C., Dapunt U., Stegmaier S., Schirmacher P., Wabnitz G.H., et al. Expression of the bitter receptor T2R38 in pancreatic cancer: localization in lipid droplets and activation by a bacteria-derived quorum-sensing molecule. *Oncotarget.* 2016; 7(11): 12623–32. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7206>
39. Mitsuhashi K., Noshō K., Sukawa Y., Matsunaga Y., Ito M., Kurihara H., et al. Association of *Fusobacterium* species in pancreatic cancer tissues with molecular features and prognosis. *Oncotarget.* 2015; 6(9): 7209–20. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3109>
40. Yang Y., Jobin C. Novel insights into microbiome in colitis and colorectal cancer. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2017; 33(6): 422–7. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000399>
41. Lu Y., Chen J., Zheng J., Hu G., Wang J., Huang C., et al. Mucosal adherent bacterial dysbiosis in patients with colorectal adenomas. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26337. <https://doi.org/10.1038/srep26337>
42. Avuthu N., Guda C. Meta-analysis of altered gut microbiota reveals microbial and metabolic biomarkers for colorectal cancer. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(4): e0001322. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00013-22>
43. Wong S.H., Zhao L., Zhang X., Nakatsu G., Han J., et al. Gavage of fecal samples from patients with colorectal cancer promotes intestinal carcinogenesis in germ-free and conventional mice. *Gastroenterology.* 2017; 153(6): 1621–33.e6. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.022>

44. Gao Z., Guo B., Gao R., Zhu Q., Qin H. Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00020>
45. Ternák G., Berényi K., Sümegi A., Szenczi Á., Fodor B., Németh B., et al. Antibiotic consumption patterns in European countries may be associated with the incidence of major carcinomas. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(10): 643. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100643>
46. Boursi B., Mamtani R., Haynes K., Yang Y.X. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation – Another step in understanding the role of the human microbiota? *Eur. J. Cancer*. 2015. 51(17): 2655–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.015>
47. Petrelli F., Ghidini M., Ghidini A., Perego G., Cabiddu M., Khakoo S., et al. Use of antibiotics and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(8): 1174. <https://doi.org/10.3390/cancers11081174>
48. Yang J.H., Bhargava P., McCloskey D., Mao N., Palsson B.O., Collins J.J. Antibiotic-induced changes to the host metabolic environment inhibit drug efficacy and alter immune function. *Cell Host Microbe*. 2017; 22(6): 757–65.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.10.020>
49. Purcell R.V., Pearson J., Aitchison A., Dixon L., Frizelle F.A., Keenan J.I. Colonization with enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* is associated with early-stage colorectal neoplasia. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171602>
50. Mangerich A., Knutson C.G., Parry N.M., Muthupalani S., Ye W., Prestwich E., et al. Infection-induced colitis in mice causes dynamic and tissue-specific changes in stress response and DNA damage leading to colon cancer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(27): E1820–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1207829109>
51. Rubinstein M.R., Baik J.E., Lagana S.M., Han R.P., Raab W.J., Sahoo D., et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal cancer by inducing Wnt/ β -catenin modulator Annexin A1. *EMBO Rep*. 2019; 20(4): e47638. <https://doi.org/10.15252/embr.201847638>
52. Clay S.L., Fonseca-Pereira D., Garrett W.S. Colorectal cancer: the facts in the case of the microbiota. *J. Clin. Invest*. 2022; 132(4): e155101. <https://doi.org/10.1172/JCI155101>
53. Liu X., Cheng Y., Zang D., Zhang M., Li X., Liu D., et al. The role of gut microbiota in lung cancer: from carcinogenesis to immunotherapy. *Front. Oncol.* 2021; 11: 720842. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.720842>
54. Zhao Y., Liu Y., Li S., Peng Z., Liu X., Chen J., et al. Role of lung and gut microbiota on lung cancer pathogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2021; 147(8): 2177–186. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03644-0>
55. Georgiou K., Marinov B., Farooqi A.A., Gazouli M. Gut microbiota in lung cancer: where do we stand? *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(19): 10429. <https://doi.org/10.3390/ijms221910429>
56. Zhuang H., Cheng L., Wang Y., Zhang Y.K., Zhao M.F., Liang G.D., et al. Dysbiosis of the gut microbiome in lung cancer. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9: 112. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00112>
57. Zhang W.Q., Zhao S.K., Luo J.W., Dong X.P., Hao Y.T., Li H., et al. Alterations of fecal bacterial communities in patients with lung cancer. *Am. J. Transl. Res.* 2018; 10(10): 3171–85.
58. Gui Q., Li H., Wang A., Zhao X., Tan Z., Chen L., et al. The association between gut butyrate-producing bacteria and non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Lab. Anal.* 2020; 34(8): e23318. <https://doi.org/10.1002/jcla.23318>
59. Zheng Y., Fang Z., Xue Y., Zhang J., Zhu J., Gao R., et al. Specific gut microbiome signature predicts the early-stage lung cancer. *Gut Microbes*. 2020; 11(4): 1030–42. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1737487>
60. Botticelli A., Putignani L., Zizzari I., Del Chierico F., Reddel S., Di Pietro F., et al. Changes of microbiome profile during nivolumab treatment in NSCLC patients. *J. Clin. Oncol.* 2018; 36(15 Suppl.): e15020. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.e15020
61. Jin C., Lagoudas G.K., Zhao C., Bullman S., Bhutkar A., Hu B., et al. Commensal microbiota promote lung cancer development via $\gamma\delta$ T cells. *Cell*. 2019; 176(5): 998–1013.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.040>
62. Yang Y., Wang X., Huycke T., Moore D.R., Lightfoot S.A., Huycke M.M. Colon macrophages polarized by commensal bacteria cause colitis and cancer through the bystander effect. *Transl. Oncol.* 2013; 6(5): 596–606. <https://doi.org/10.1593/tlo.13412>
63. Ridlon J.M., Wolf P.G., Gaskins H.R. Taurocholic acid metabolism by gut microbes and colon cancer. *Gut Microbes*. 2016; 7(3): 201–15. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1150414>
64. Goodwin A.C., Destefano Shields C.E., Wu S., Huso D.L., Wu X., Murray-Stewart T.R., et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2011; 108(37): 15354–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010203108>
65. Zhang Z., Aung K.M., Uhlin B.E., Wai S.N. Reversible senescence of human colon cancer cells after blockage of mitosis/cytokinesis caused by the CNF1 cyclomodulin from *Escherichia coli*. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 17780. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36036-5>
66. Parida S., Sharma D. The microbiome-estrogen connection and breast cancer risk. *Cells*. 2019; 8(12): 1642. <https://doi.org/10.3390/cells8121642>
67. Kwa M., Plottel C.S., Blaser M.J., Adams S. The intestinal microbiome and estrogen receptor-positive female breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016; 108(8): djw029. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw029>
68. Flores R., Shi J., Fuhrman B., Xu X., Veenstra T.D., Gail M.H., et al. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: a cross-sectional study. *J. Transl. Med.* 2012; 10: 253. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-253>
69. Dabek M., McCrae S.I., Stevens V.J., Duncan S.H., Louis P. Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene *gus* in human colonic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2008; 66(3): 487–95. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00520.x>
70. Duarte L., Gasaly N., Poblete-Aro C., Uribe D., Echeverria F., Gotteland M., et al. Polyphenols and their anti-obesity role mediated by the gut microbiota: a comprehensive review. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2021; 22(2): 367–88. <https://doi.org/10.1007/s11154-020-09622-0>
71. Plottel C.S., Blaser M.J. Microbiome and malignancy. *Cell Host Microbe*. 2011; 10(4): 324–35. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.003>
72. Rodriguez A.C., Blanchard Z., Maurer K.A., Gertz J. Estrogen signaling in endometrial cancer: a key oncogenic pathway with several open questions. *Horm. Cancer*. 2019; 10(2–3): 51–63. <https://doi.org/10.1007/s12672-019-0358-9>
73. Raftogianis R., Creveling C., Weinsilboum R., Weisz J. Estrogen metabolism by conjugation. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2000; (27): 113–24. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a024234>
74. Luis A.S., Jin C., Pereira G.V., Glowacki R.W.P., Gugel S.R., Singh S., et al. A single sulfatase is required to access colonic mucin by a gut bacterium. *Nature*. 2021; 598(7880): 332–7. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03967-5>
75. Li C.C., Tang X.Y., Zhu Y.B., Song Y.J., Zhao N.L., Huang Q., et al. Structural analysis of the sulfatase AmAS from *Akkermansia muciniphila*. *Acta Crystallogr. D Struct. Biol.* 2021; 77(Pt. 12): 1614–23. <https://doi.org/10.1107/S2059798321010317>

76. Praharaj A.B., Dehury B., Mahapatra N., Kar S.K., Behera S.K. Molecular dynamics insights into the structure, function, and substrate binding mechanism of mucin desulfating sulfatase of gut microbe *Bacteroides fragilis*. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(4): 3618–31. <https://doi.org/10.1002/jcb.26569>
77. Liss M.A., White J.R., Goros M., Gelfond J., Leach R., Johnson-Pais T., et al. Metabolic biosynthesis pathways identified from fecal microbiome associated with prostate cancer. *Eur. Urol.* 2018; 74(5): 575–82. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.06.033>
78. Golombos D.M., Ayangbesan A., O'Malley P., Lewicki P., Barlow L., Barbieri C.E., et al. The role of gut microbiome in the pathogenesis of prostate cancer: a prospective, pilot study. *Urology.* 2018; 111: 122–8. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2017.08.039>
79. Fujita K., Matsushita M., Banno E., De Velasco M.A., Hatanaka K., Nonomura N., et al. Gut microbiome and prostate cancer. *Int. J. Urol.* 2022; 29(8): 793–8. <https://doi.org/10.1111/iju.14894>
80. Wheeler K.M., Liss M.A. The microbiome and prostate cancer risk. *Curr. Urol. Rep.* 2019; 20(10): 66. <https://doi.org/10.1007/s11934-019-0922-4>
81. Jain S., Suklabaidya S., Das B., Raghav S.K., Batra S.K., Senapati S. TLR4 activation by lipopolysaccharide confers survival advantage to growth factor deprived prostate cancer cells. *Prostate.* 2015; 75(10): 1020–33. <https://doi.org/10.1002/pros.22983>
82. Vatanen T., Kostic A.D., d'Hennezel E., Siljander H., Franzosa E.A., Yassour M., et al. Variation in microbiome lps immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell.* 2016; 165(4): 842–53. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.007>
83. Kuiper G.G., Enmark E., Pelto-Huikko M., Nilsson S., Gustafsson J.A. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1996; 93(12): 5925–30. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.5925>
84. Pinato D.J., Howlett S., Ottaviani D., Urus H., Patel A., Minneo T., et al. Association of prior antibiotic treatment with survival and response to immune checkpoint inhibitor therapy in patients with cancer. *JAMA Oncol.* 2019; 5(12): 1774–8. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.2785>
85. Pushalkar S., Hundeyin M., Daley D., Zambirinis C.P., Kurz E., Mishra A., et al. The pancreatic cancer microbiome promotes oncogenesis by induction of innate and adaptive immune suppression. *Cancer Discov.* 2018; 8(4): 403–16. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1134>
86. Li Y., Elmén L., Segota I., Xian Y., Tinoco R., Feng Y., et al. Prebiotic-induced anti-tumor immunity attenuates tumor growth. *Cell Rep.* 2020; 30(6): 1753–66.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.035>
87. Arthur J.C., Gharaibeh R.Z., Uronis J.M., Perez-Chanona E., Sha W., Tomkovich S., et al. VSL#3 probiotic modifies mucosal microbial composition but does not reduce colitis-associated colorectal cancer. *Sci. Rep.* 2013; 3: 2868. <https://doi.org/10.1038/srep02868>
88. McQuade J.L., Daniel C.R., Helmink B.A., Wargo J.A. Modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer. *Lancet. Oncol.* 2019; 20(2): e77–e91. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30952-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30952-5)
89. Matson V., Fessler J., Bao R., Chongsuwat T., Zha Y., Alegre M.L., et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science.* 2018; 359(6371): 104–8. <https://doi.org/10.1126/science.aao3290>

Информация об авторах

Костин Роман Константинович[✉] — студент Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, rkostin2000@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4446-1357>

Малюгин Дмитрий Андреевич — студент Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5598-2094>

Солёнова Лия Геннадьевна — д.б.н., научный консультант НИИ канцерогенеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4443-8376>

Кулаева Елизавета Дмитриевна — лаборант-исследователь научно-исследовательской лаборатории «Биология развития и организации генома» Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5886-7975>

Участие авторов. Р.К. Костин и Д.А. Малюгин внесли равноценный вклад в работу, равный вкладу первого автора. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 20.09.2022;
принята к публикации 15.11.2022;
опубликована 28.02.2023

Information about the authors

Roman K. Kostin[✉] — student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, rkostin2000@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4446-1357>

Dmitriy A. Malyugin — student, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5598-2094>

Liya G. Solenova — D. Sci. (Biol.), scientific consultant, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center for Oncology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4443-8376>

Elizaveta D. Kulaeva — research assistant, Biology of Development and Genome Organization Research Laboratory, Academy of Biology and Biotechnology, South Federal University, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5886-7975>

Author contribution. R.K. Kostin and D.A. Malyugin made an equal contribution to the work, equal to the contribution of the first author. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 20.09.2022;
accepted for publication 15.11.2022;
published 28.02.2023

Научный обзор

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-250>

Эндолизины бактериофагов

Баркова И.А.[✉], Ижбердеева М.П., Сауткина А.А.

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, Волгоград, Россия

Аннотация

Эндолизины бактериофагов — биологически активные вещества, играющие особую роль в жизнедеятельности фага, действие которых направлено на деградацию пептидогликана бактерии-хозяина для проникновения внутрь и последующего высвобождения потомства бактериофага. В связи с устойчивостью бактерий к антибиотикам эндолизины рассматриваются в качестве альтернативных терапевтических средств.

Цель обзора — обобщение данных о биологии, структуре, механизмах действия эндолизинов бактериофагов, а также о препаратах на их основе, находящихся на разных стадиях исследований.

Выполнен поиск результатов исследований бактериальных эндолизинов за последние 20 лет с использованием интернет-ресурсов PubMed, Web of Science, Scopus на английском языке по ключевым словам: lysin, bacteriophages, holin, antibiotic resistance.

Анализ данных литературы показал, что структура фаговых эндолизинов грамположительных и грамотрицательных бактерий различается и отражает различия в архитектуре клеточной стенки между этими основными бактериальными группами. В зависимости от расщепляемой связи в пептидогликане эндолизин можно разделить как минимум на пять различных групп: гликозидазы (2 группы — аминидазы и мурамидазы), эндопептидазы, специфические амидогидролазы и литические трансгликозилазы. На сегодняшний день изучены эндолизин, которые эффективны против ряда патогенов, включая *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *St. agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и др. На сегодняшний день в ряде исследований показан терапевтический потенциал эндолизинов в борьбе с антибиотикорезистентными инфекциями.

Ключевые слова: обзор, эндолизин, бактериофаги, грамположительные, грамотрицательные бактерии, пептидогликан, антибиотикорезистентность

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

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

Для цитирования: Баркова И.А., Ижбердеева М.П., Сауткина А.А. Эндолизин бактериофагов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(1):126–134.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-250>

Review

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-250>

Endolysins of bacteriophages

Irina A. Barkova[✉], Margarita P. Izhberdeeva, Anastasiya A. Sautkina

Volograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia

Abstract

Bacteriophage endolysins are a biologically active substances that play a specific role in the release of phage progeny by degrading the peptidoglycan of the host bacterium. In the light of antibiotic resistance, endolysins are considered as alternative therapeutic agents because of their exceptional ability to target bacterial cells.

Aim — summarization of the data on the biology, structure, mechanisms of action of bacteriophage endolysins, as well as on preparations based on them, which are at different stages of research.

The results of studies of bacterial endolysins over the past 20 years were searched using the Internet resources PubMed, Web of Science, Scopus in English for the keywords: lysin, bacteriophages, holin, antibiotic resistance.

The analysis of literature data showed that the structure of phage endolysins of Gram-positive and Gram-negative bacteria differs from each other and reflects differences in their architecture due to variation in the cell wall com-

position of these two major bacterial groups. Depending on the cleavable bond in peptidoglycan, endolysins can be divided into at least five different groups: glycosidases (two groups — amidases and muramidases), endopeptidases, specific amidoglycolases, and lytic transglycosylases. To date, endolysins effective against a number of pathogens have been studied, including *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, etc. A number of studies have shown the therapeutic potential of endolysins in combating antibiotic-resistant infections.

Keywords: review, endolysins, bacteriophages, gram-positive, gram-negative bacteria, peptidoglycan, antibiotic resistance

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

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

For citation: Barkova I.A., Izhberdeeva M.P., Sautkina A.A. Endolysins of bacteriophages. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(1):126–134.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-250>

Инфекционные болезни остаются одной из основных причин смертности, на их долю приходится до 30% ежегодно регистрируемых летальных исходов на планете, что составляет 14–17 млн случаев. В мае 2015 г. Всемирная организация здравоохранения признала резистентность к антибиотикам причиной кризиса современной медицины и предложила глобальный план борьбы с устойчивостью к противомикробным препаратам [1].

Одним из перспективных направлений, позволяющих преодолеть антибиотикорезистентность, является применение эндолизинов бактериофагов или фаг-ассоциированных лизинов, получивших название «энзимобиотиков». Они так же специфичны к конкретным штаммам или видам бактерий, как и бактериофаги, не разрушают полезную микрофлору организма и действуют против антибиотикорезистентных бактерий.

Цель обзора: обобщение данных о биологии, структуре, механизмах действия эндолизинов бактериофагов, а также препаратах на их основе, находящихся на разных стадиях исследований.

Механизм действия, структура, классификация эндолизинов

Эндолизины фагов активно изучались в течение полувека *in vitro*, только с 2001 г. появились экспериментальные работы по оценке эффективности эндолизинов с использованием биомоделей [2].

Жизненный цикл литического бактериофага включает в себя следующие основные этапы:

- 1) связывание с рецепторами клетки;
- 2) ограниченный лизис муреина пептидогликанового слоя и проникновение ДНК фага внутрь клетки бактерии (трансфекция);
- 3) ингибирование биосинтеза нуклеиновых кислот хозяина с переключением на биосинтез генома фага;
- 4) регулирование собственного белкового синтеза;
- 5) сборка вирусных частиц, лизис клеточной стенки бактерии и выход вирусных частиц.

Таким образом, в процессе инфицирования бактерии происходят 2 этапа лизиса пептидогликанового слоя: «лизис извне» («lysis from without») и проникновение ДНК фага; а также «лизис изнутри» («lysis from within») и выход новых фаговых частиц. «Лизис извне» происходит при связывании фага со специфичными рецепторами, расположенными на клетке бактерии, а затем при помощи ферментов фага лизирующими слой пептидогликана до степени, позволяющей ДНК фага оказаться внутри клетки. Таким образом, «лизис извне» является точечным и ограничен в пространстве и во времени. Эти ограничения обусловлены тем, что вирусу для успешного осуществления своей стратегии размножения необходимо проникнуть в клетку, при этом не убив её. Обычно «лизис извне» осуществляется ассоциированным с капсидом фаголизинном, например у бактериофага T4 это структурный белок базальной пластинки gp5, который содержит функциональный домен [3, 4].

«Лизис изнутри» в противоположность «лизису извне» не ограничен в пространстве, но чётко привязан ко времени. Эндолизины синтезируются в цитоплазме инфицированных бактерий и действуют на них изнутри. Для эффективной работы эндолизинам в большинстве случаев необходимо присутствие специальных регуляторных белков. Такие белки в международной литературе называются холинами (holin — от hole «дыра»), которые не стоит путать с предшественником нейромедиатора ацетилхолина — холином (choline). Олигомеры данного белка формируют отверстия в цитоплазматической мембране (ЦПМ) бактерий, через которые эндолизины пересекают ЦПМ и получают доступ к пептидогликановому слою, тем самым вызывая его тотальный лизис с последующим разрушением и высвобождением зрелых фаговых частиц [5–7].

Клеточная стенка у грамположительных бактерий состоит из пептидогликана и ЦПМ, а у грамотрицательных бактерий — из наружной мембраны, пептидогликана и ЦПМ. Наиболее труднопреодолимую преграду фагу на пути инфицирования создает

пептидогликановый слой. Он построен из чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединённых между собой посредством β -1,4-гликозидных связей. К N-ацетилмурамовой кислоте присоединён пептидный фрагмент, состоящий из нескольких аминокислот. Как правило, именно различие в пептидной части обуславливает многообразие пептидогликанов различных видов бактерий. Сшитые пептидом между собой блоки гликанов (муреин) образуют, по существу, единую гигантскую макромолекулу, которая определяет прочность пептидогликанового слоя и его непроницаемость для вирусных частиц и токсических факторов большой массы. Следовательно, для проникновения фаговой ДНК внутрь клетки фагу необходимо локально нарушить целостность не только клеточных мембран, но и пептидогликанового слоя [8]. Эндолизины бактериофагов при наружном применении могут уничтожить грамположительные бактерии из-за отсутствия внешней мембраны в клеточной стенке [9].

Структура фаговых эндолизинов грамположительных и грамотрицательных бактерий отличается между собой и отражает различия в архитектуре клеточной стенки между этими основными бактериальными группами.

Эндолизины фагов грамположительных бактерий имеют два типа функциональных доменов: домены связывания с клеточной стенкой (cell wall binding domains — CBD) и ферментативно активные домены (enzymatically active domains — EAD), которые объединены в модульную структуру с одним или двумя N-концевыми EAD и одним или несколькими C-концевыми CBD, связанные короткой линкерной областью. EAD обеспечивает расщепление специфических связей внутри бактериального пептидогликана. CBD направляет белок на его субстрат и держит его плотно связанным с остатками клеточной стенки после лизиса клеток, тем самым, вероятно, предотвращая диффузию и последующее разрушение окружающих неповреждённых клеток, которые ещё не были инфицированы фагом [10–12].

Эндолизины фагов грамотрицательных организмов представляют собой небольшие однодоменные глобулярные белки (молекулярная масса 15–20 кДа), состоящие только из одного каталитического домена (обычно EAD). CBD в большинстве случаев отсутствует в связи с тем, что наружная мембрана препятствует связыванию эндолизина с пептидогликаном. Но существуют и исключения: например, эндолизин бактериофага KZ144, заражающего *Pseudomonas*, имеет модульную структуру: N-концевой CBD и C-концевую литическую трансгликозилазу [13–16].

EAD катализирует распад пептидогликана. В зависимости от расщепляемой связи в пептидогликане эндолизины можно разделить как минимум

на 5 различных групп: гликозидазы (2 группы — N-ацетилглюкозаминидазы и N-ацетилмурамидазы), эндопептидазы, специфические амидогидролазы и литические трансгликозилазы [9].

Мурамидазы и глюкозаминидазы по своей природе являются гликозидазами, тогда как трансгликозилазы являются гидролазами и расщепляют гликозидные связи. N-ацетилмурамоил-L-аланинамидазы являются наиболее часто встречающимися и ранее идентифицированными пептидогликангидролазами. Цистеин-гистидин-зависимые амидогидролазы/пептидазные домены представляют собой EAD, несущие активность амидазы, тогда как другие EAD содержат активность эндопептидазы [17–19].

EAD обеспечивают специфичность лизинов за счёт действия на целевые мишени в пептидогликане. Среди эндолизинов наиболее распространены амидазы и мурамидазы, нацеленные на высококонсервативные связи пептидогликанов: N-ацетилмурамоил-L-аланинамидазы гидролизуют амидную связь между N-ацетилмурамовой кислотой и L-аланином; лизоцим-подобные мурамидазы гидролизуют β 1–4-связь между остатками N-ацетилмурамовой кислоты и N-ацетилглюкозамином. Электрический заряд EAD играет важную роль в литической активности эндолизинов, поскольку мембраны грамположительных организмов заряжены отрицательно [20].

CBD распознают и соединяются со специфическими лигандами на поверхности клетки, обеспечивая действие фермента. Наиболее распространённым консервативным CBD, о котором сообщается в литературе, является LysM, который связывается с N-ацетилглюкозамином углеводного остова пептидогликана [21, 22]. Аффинность связывания CBD с соответствующими лигандами сопоставима с аффинностью связывания антител с антигенами [9].

Взаимодействие EAD с клеточной стенкой бактерий не зависит от CBD. Ряд эндолизинов сохраняет или повышает свою литическую активность без CBD, тогда как некоторые эндолизины демонстрируют снижение своего литического потенциала при делеции в гене, продуктом которого является CBD. Повышенная активность EAD по сравнению с полноразмерными эндолизинами объясняется их меньшим размером, который способствует диффузии EAD в клетку [22–25].

Гидролиз пептидогликана под действием эндолизинов приводит к лизису клетки, т.е. к её гибели и фрагментированию на составные части. Об активности эндолизинов бактериофагов можно судить по уменьшению мутности бактериальной суспензии или пептидогликана, по зоне лизиса бактериального газона, а также по снижению количества жизнеспособных бактерий [24]. Сущность метода турбидиметрии заключается в фиксировании скорости

падения оптической плотности вследствие распада клеток. Он может применяться по отношению к суспензии живых или инактивированных бактериальных клеток, а также к суспензиям пептидогликана. Ферментативную активность эндолизинов обычно оценивают по снижению оптической плотности бактериальной суспензии при 37°C в течение определённого периода времени путём добавления фосфатного или трис-буфера (рН 7–8), содержащего фермент [9, 26, 27].

Количественную оценку ферментативной активности эндолизинов проводят путём подсчета через регулярные промежутки времени количества колониеобразующих единиц после высева на питательные среды смеси фермента с бактериальной взвесью [27].

Наименьшая концентрация, которая подавляет бактериальный рост, называется минимальным ингибирующим количеством эндолизина. Для её определения на бактериальный посев наносят небольшие объемы (5–10 мкл) суспензии ферментов. Эндолизины, охарактеризованные на сегодняшний день, показали высокую бактериолитическую активность от 10^2 до 10^8 ЕД/мг фермента [9, 28].

Эндолизины как терапевтические средства

Впервые V.A. Fischetti и соавт. было обнаружено, что пероральное введение эндолизина (Cpl-1) стрептококкового бактериофага Cp-1 защищало мышей от заражения верхних дыхательных путей *Streptococcus pyogenes* (30% инфицированных особей, получавших лечение, против 70% инфицированных в контрольной группе). Увеличение дозы препарата привело к полному исчезновению стрептококков через 2 ч после введения. Также был введен термин «энзибиотик» для описания терапевтического потенциала эндолизинов [30].

Вскоре были получены аналогичные результаты для эндолизина Pal из пневмококкового бактериофага Dp-1. Эндолизин PlyG был идентифицирован в «гамма»-фаге, специфичном для *Bacillus anthracis*. Единичная доза (50 ЕД/особь), введённая через 15 мин после внутрибрюшинного заражения, позволила выжить 68,4% экспериментальных животных [2, 30].

На сегодняшний день изучены эндолизины, которые эффективны против ряда патогенов, включая *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia* spp. [13, 15, 16, 19, 23, 24, 28–31].

Стоит отметить, что все стрептококковые эндолизины фагов обладают высокой штамм-специфичностью, включая инкапсулированные и пенициллин-устойчивые. Так, например, Cpl-711 (химерная

гидролаза муреина) представляет собой холин-связывающий белок, созданный путём слияния двух лизоцимов пневмококковых фагов, принадлежащих к семейству гликозилгидролаз GH25, другими словами, каталитический домен происходит от Cpl-7, а домен связывания клеточной стенки — от Cpl-1 [32, 33]. Данный эндолизин был наиболее активным и специфичным в отношении пневмококков и защищал мышей, заражённых штаммом пневмококка D39_IU при его однократной внутрибрюшинной инъекции. Комбинированное лечение эндолизином с антибиотиками или бактериофагами может быть перспективным для борьбы с заболеваниями, спровоцированными полирезистентными штаммами. Синергетический бактерицидный эффект Cpl-711 и цефотаксима был подтверждён с использованием моделей мышей и рыбок *Danio rerio*, инфицированных полирезистентным штаммом пневмококка [34].

В связи с ростом числа штаммов *S. aureus* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и метициллинрезистентностью применение антибиотиков становится неэффективным.

В настоящее время завершена вторая фаза клинических испытаний препарата эндолизина CF-301 (exebacase) («ContraFect»). При применении *in vitro* он проявлял высокую активность в отношении биоплёнок стафилококка, разрушая их за короткий период. Планируется проведение третьей фазы — рандомизированные двойные слепые плацебо-контролируемые клинические исследования, в которых примут участие примерно 350 пациентов с бактериемией, в том числе с эндокардитом, будут оценены эффективность и безопасность CF-301 [35].

Вторую стадию клинических испытаний проходит препарат N-Rephasin® SAL200 («Intron Biotechnology Inc.»). Его фармакологически активный ингредиент представлен рекомбинантной формой эндолизина фага SAL-1 (rSAL-1). Этот эндолизин фага, в свою очередь, был получен из бактериофага SAP-1, который инфицирует штаммы *S. aureus*, такие как метициллинрезистентные и устойчивые к ванкомицину [36, 37].

Международная компания «LYSANDO AG» зарегистрировала технологическую платформу под коммерческим названием «Artilysin®», которая представляет собой комбинацию эндолизинов с дестабилизирующими пептидами. Одним из примеров артилизинов является Art-175, обладающий широким спектром действия, состоящий из модифицированной версии лизина KZ144 *P. aeruginosa* и мощного антимикробного пептида SMAP-29, состоящего из 29 аминокислот (миелоидный пептид барана/sheep myeloid antimicrobial peptide-29).

Артилизин Art-240, химерный белок антистрептококкового эндолизина λSa2lys и поликатионного пептида (the polycationic nonapeptide (PCNP)), проявляет такую же видоспецифичность,

как и исходный эндолизин, но имеет бóльшую (примерно в 2 раза) бактерицидную активность.

Новая пептидная составляющая позволяет молекулам проходить через внешнюю мембрану и достигать пептидогликана. Таким образом, дестабилизированная стенка бактериальной клетки становится неспособной выдерживать высокое осмотическое давление, что приводит к быстрому и эффективному лизису клеток, что делает «Artilysin®» более эффективными против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [37–41].

Новые штаммы грамотрицательных микроорганизмов с МЛУ, устойчивые ко всем или почти всем доступным антибиотикам, рассматриваются как серьёзная угроза здоровью.

По данным CDC (Centers for Disease Control and Prevention), в 2017 г. бактерии рода *Acinetobacter*, устойчивые к карбапенемам, были причиной не менее 8500 случаев инфекционных заболеваний, 700 из которых закончились летальным исходом [42].

Лизин LysAB2, специфичный для *A. baumannii*, был выделен из литического фага ФАВ2 *A. baumannii* и состоит из N-концевого лизоцимоподобного домена и положительно заряженной C-концевой области. LysAB2 обладает широкой бактерицидной активностью *in vitro* в отношении мультирезистентных как грамотрицательных (*A. baumannii* и *E. coli*), так и грамположительных (*S. aureus*) бактерий [43].

PlyF307, естественный лизин 16 кДа, который был идентифицирован из природного штамма *A. baumannii*, состоит из N-концевого ферментативного домена мурамидазы и C-концевой области, которая имеет высокий положительный заряд. Целевой сайт PlyF307 расположен на обеих — наружной и внутренней — мембранах *A. baumannii*.

PlyF307 устанавливает ионные взаимодействия с наружной мембраной и инициирует литический процесс, обеспечивая доступ N-концевого ферментативного домена к пептидогликану, что ведёт к нарушению внутренней мембраны и в конечном итоге вызывает гибель бактериальных клеток. PlyF307 — первый грамотрицательный лизин, который продемонстрировал эффективность *in vivo* на мышинной модели бактериемии [44].

По данным CDC, в 2017 г. в США нозокомиальные инфекции, вызванные МЛУ *P. aeruginosa*, привели к 32 600 случаям заболевания и 2700 смертельным исходам. Используя подход *in silico* для поиска геномов фагов *P. aeruginosa*, исследователи идентифицировали 16 лизинов, специфичных для *P. aeruginosa*, которые имели филогенетическое сходство с лизином *A. baumannii* PlyF307 [44, 45].

Ведётся активный поиск препаратов, нацеленных против *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* и *K. pneumoniae*. Препарат CF-370 представляет собой лизин, обладающий высокой актив-

ностью против синегнойной палочки. На стадии доклинических испытаний CF-370 продемонстрировал высокую бактерицидную активность в отношении биоплёнок, синергизм с широким спектром стандартных антибактериальных средств [35].

Сотрудниками лаборатории молекулярной биоинженерии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН был выделен и описан эндолизин бактериофага S-394, получивший название Lys394, разработан способ его доставки через внешнюю мембрану *E. coli* к пептидогликану. Фермент является рекомбинантной металлозависимой пептидазой, содержит единственный каталитический домен Peptidase_M15_4 и обладает активностью по отношению к бактериям родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella* [46].

Исследованы и оценены литические свойства нативных и мутантных форм цитолитических ферментов бактериофага фKZ, активного против бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. В результате исследования изучены функциональные домены гена 181 бактериофага фKZ, кодирующий пептидогликан-лизирующий фермент, что позволило получить делеционные варианты данного белка, отличающиеся от нативной формы повышенной термостабильностью и активностью [47].

Другая группа исследователей изучила бактериофаг Izhevsk, найденный в образце почвы, взятом с газона города Ижевск, а также его эндолизин Ply57, который обладает широким спектром активности в отношении бактерий группы *B. cereus-sensu lato* [48].

Исследование А.В. Поповой и соавт. посвящено выделению и характеристике 8 новых бактериальных вирусов, которые специфически инфицируют штаммы *A. baumannii*. В ходе работы также были получены рекомбинантные деполимеразы, которые являются гликозидазами и специфически расщепляют капсульный липополисахарид *A. baumannii* по гидролитическому механизму [49].

В это же время изучали активность *in vitro* трех рекомбинантных эндолизинов бактериофага Myoviridae (LysAm24, LysECD7 и LysSi3). Ферменты тестировали на панели грамотрицательных клинических бактериальных изолятов, включающей всех грамотрицательных представителей группы ESCAPE. Эндолизин LysECD7 в экспериментах *in vivo* с использованием имплантируемой диффузионной камеры при формировании биоплёнки антибиотикорезистентным клиническим штаммом *K. pneumoniae* Ts 141-14 значительно уменьшал её образование и был способен разрушить предварительно сформированную *in vitro* биоплёнку. По мнению авторов, LysECD7 является перспективным эндолизином в отношении клинически значимых биоплёнок [50, 51].

Заключение

В связи с ростом устойчивости к антибиотикам необходим поиск новых противомикробных средств. Эндолизины являются перспективными веществами из-за их высокой активности против планктонных, биоплёночных структур, а также специфичности и способности бороться с МЛУ-микроорганизмами.

Анализ данных литературы показал, что структура фаговых эндолизинов грамположительных и грамотрицательных бактерий отличается между собой и отражает различия в архитектуре клеточной стенки между этими основными бактериальными группами. В зависимости от расщепляемой связи в пептидогликане эндолизины можно разделить как минимум на 5 различных групп: гликозидазы (2 группы — аминидазы и мурамидазы), эндопептидазы, специфические амидогидролазы и литические трансгликозилазы. Количественную оценку ферментативной активности эндолизинов проводят путём подсчёта через регулярные промежутки времени количества колониеобразующих единиц после высева на питательные среды смеси фермента с бактериальной взвесью. На сегодняшний день изучены эндолизины, которые эффективны против ряда патогенов, включая *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и др. Разработаны препараты, внедрение которых находится на разных стадиях испытаний, продемонстрировавшие высокую бактерицидную активность в отношении биоплёнок, синергизм с широким спектром стандартных антибактериальных средств.

Несмотря на всё вышесказанное, необходимы дальнейшие исследования по оценке возможности применения препаратов на основе эндолизинов бактериофагов в лечебной практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. WHO. Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva; 2015. URL: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>
2. Fischetti V.A. Development of phage lysins as novel therapeutics: a historical perspective. *Viruses*. 2018; 10(6): 310–9. <https://doi.org/10.3390/v10060310>
3. Leiman P.G., Chipman P.R., Kostyuchenko V.A., Mesyanzhinov V.V., Rossmann M.G. Three-dimensional rearrangement of proteins in the tail of bacteriophage T4 on infection of its host. *Cell*. 2004; 118(4): 419–29. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.022>
4. Kanamaru S., Leiman P.G., Kostyuchenko V.A., Chipman P.R., Mesyanzhinov V.V., Arisaka F., et al. Structure of the cell-puncturing device of bacteriophage T4. *Nature*. 2002; 415(6871): 553–7. <https://doi.org/10.1038/415553a>
5. Oliveira H., São-José C., Azeredo J. Phage-derived peptidoglycan degrading enzymes: challenges and future prospects for *in vivo* therapy. *Viruses*. 2018; 10(6): 292. <https://doi.org/10.3390/v10060292>
6. Roach D.R., Donovan D.M. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage*. 2015; 5(3): e1062590. <https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1062590>
7. Young R. Phage lysis: three steps, three choices, one outcome. *J. Microbiol.* 2014; 52(3): 243–58. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4087-z>
8. Stone R. Bacteriophage therapy. Stalin's forgotten cure. *Science*. 2002; 298(5594): 728–31. <https://doi.org/10.1126/science.298.5594.728>
9. Schmelcher M., Donovan D.M., Loessner M.J. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Fut. Microbiol.* 2012; 7(10): 1147–71.
10. Loessner M.J., Kramer K., Ebel F., Scherer S. C-terminal domains of *Listeria monocytogenes* bacteriophage murein hydrolases determine specific recognition and high-affinity binding to bacterial cell wall carbohydrates. *Mol. Microbiol.* 2002; 44(2): 335–49. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02889.x>
11. Loessner M.J. Bacteriophage endolysins – current state of research and applications. *Curr. Opin. Microbiol.* 2005; 8(4): 480–7. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.002>
12. Rodriguez-Rubio L., Gutierrez D., Donovan D.M., Martinez B., Rodriguez A., Garcia P. Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2016; 36(3): 542–52. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.993587>
13. Oliveira H., Vilas Boas D., Mesnage S., Kluskens L.D., Lavigne R., Sillankorva S., et al. Structural and enzymatic characterization of ABgp46, a novel phage endolysin with broad anti-Gram-negative bacterial activity. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 1–9. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00208>
14. Cheng X., Zhang X., Pflugrath J.W., Studier F.W. The structure of bacteriophage T7 lysozyme, a zinc amidase and an inhibitor of T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994; 91(9): 4034–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.9.4034>
15. Briers Y., Volckaert G., Cornelissen A., Lagaert S., Michiels C.W., Hertveldt K., et al. Muralytic activity and modular structure of the endolysins of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages phiKZ and EL. *Mol. Microbiol.* 2007; 65(5): 1334–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05870.x>
16. Briers Y., Schmelcher M., Loessner M.J., Hendrix J., Engelborgs Y., Volckaert G., et al. The high-affinity peptidoglycan binding domain of *Pseudomonas* phage endolysin KZ144. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 383(2): 187–91. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.03.161>
17. Nelson D., Schuch R., Chahales P., Zhu S., Fischetti V.A. PlyC: a multimeric bacteriophage lysin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006; 103(28): 10765–70. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604521103>
18. Bateman A., Rawlings N.D. The CHAP domain: a large family of amidases including GSP amidase and peptidoglycan hydrolases. *Trends. Biochem. Sci.* 2003; 28(5): 234–7. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(03\)00061-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(03)00061-6)
19. Zou Y., Hou C. Systematic analysis of an amidase domain CHAP in 12 *Staphylococcus aureus* genomes and 44 staphylococcal phage genomes. *Comput. Biol. Chem.* 2010; 34(4): 251–7. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2010.07.001>
20. Low L.Y., Yang C., Perego M., Osterman A., Liddington R. Role of net charge on catalytic domain and influence of cell wall binding domain on bactericidal activity, specificity, and host range of phage lysins. *J. Biol. Chem.* 2011; 286(39): 34391–403. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.244160>
21. Ohnuma T., Onaga S., Murata K., Taira T., Katoh E. LysM domains from *Pteris ryukyuensis* chitinase – a stability study and characterization of the chitin-binding site. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(8): 5178–87. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707156200>
22. Mesnage S., Dellarole M., Baxter N.J., Rouget J.B., Dimitrov J.D., Wang N., et al. Molecular basis for bacterial peptidoglycan recognition by LysM domains. *Nat. Commun.* 2014; 5: 4269. <https://doi.org/10.1038/ncomms5269>

23. Kashani H.H., Schmelcher M., Sabzalipoor H., Seyed Hosseini E., Moniri R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant staphylococcus aureus: current status of research and novel delivery strategies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2017; 31(1): e00071-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00071-17>
24. Mayer M.J., Garefalaki V., Spoerl R., Narbad A., Meijers R. Structure-based modification of a Clostridium difficile-targeting endolysin affects activity and host range. *J. Bacteriol.* 2011; 193(19): 5477–86. <https://doi.org/10.1128/JB.00439-11>
25. Nelson D.C., Schmelcher M., Rodriguez-Rubio L., Klumpp J., Pritchard D.G., Dong S., et al. Endolysins as antimicrobials. *Adv. Virus Res.* 2012; 83: 299–365. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4>
26. Daniel A., Euler C., Collin M., Chahales P., Gorelick K.J., Fischetti V.A. Synergism between a novel chimeric lysin and oxacillin protects against infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(4): 1603–12. <https://doi.org/10.1128/AAC.01625-09>
27. Cheng Q., Fischetti V.A. Mutagenesis of a bacteriophage lytic enzyme PlyGBS significantly increases its antibacterial activity against group B streptococci. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 74(6): 1284–91. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0771-1>
28. Loeffler J.M., Nelson D., Fischetti V.A. Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. *Science.* 2001; 294(5549): 2170–2. <https://doi.org/10.1126/science.1066869>
29. Schmelcher M., Powell A.M., Becker S.C., Camp M.J., Donovan D.M. Chimeric phage lysins act synergistically with lyso-staphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(7): 2297–305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
30. Nelson D., Loomis L., Fischetti V.A. Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98(7): 4107–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.061038398>
31. Schuch R., Nelson D., Fischetti V.A. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*. *Nature.* 2002; 418(6900): 884–9. <https://doi.org/10.1038/nature01026>
32. Bustamante N., Campillo N.E., García E., Gallego C., Pera B., Diakun G.P., et al. Cpl-7, a lysozyme encoded by a pneumococcal bacteriophage with a novel cell wall-binding motif. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(43): 33184–96. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.154559>
33. Diez-Martínez R., De Paz H.D., García-Fernández E., Bustamante N., Euler C.W., Fischetti V.A., et al. A novel chimeric phage lysin with high *in vitro* and *in vivo* bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015; 70(6): 1763–73. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv038>
34. Letrado P., Corsini B., Diez-Martínez R., Bustamante N., Yuste J.E., García P. Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Fut. Microbiol.* 2018; 13(11): 1215–23. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0077>
35. Jun S.Y., Jung G.M., Yoon S.J., Oh M.D., Choi Y.J., Lee W.J., et al. Antibacterial properties of a pre-formulated recombinant phage endolysin, SAL-1. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2013; 41(2): 156–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.10.011>
36. Kim N.H., Park W.B., Cho J.E., Choi Y.J., Choi S.J., Jun S.Y., et al. Effects of phage endolysin SAL200 combined with antibiotics on *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018; 62(10): e00731–18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00731-18>
37. Briers Y., Walmagh M., Grymonprez B., Biebl M., Pirnay J.P., Defraigne V., et al. Art-175 is a highly efficient antibacterial against multidrug-resistant strains and persists of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(7): 3774–84. <https://doi.org/10.1128/AAC.02668-14>
38. Defraigne V., Schuermans J., Grymonprez B., Govers S.K., Aertsen A., Fauvart M., et al. Efficacy of artilysin Art-175 against resistant and persistent *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60(6): 3480–8. <https://doi.org/10.1128/AAC.00285-16>
39. Rodríguez-Rubio L., Chang W.L., Gutiérrez D., Lavigne R., Martínez B., Rodríguez A., et al. 'Artilylation' of endolysin λSa-2lys strongly improves its enzymatic and antibacterial activity against streptococci. *Sci. Rep.* 2016; 6: 35382. <https://doi.org/10.1038/srep35382>
40. Schirmeier E., Zimmermann P., Hofmann V., Biebl M., Gerstmanns H., Maervoet V.E.T., et al. Inhibitory and bactericidal effect of Artilysin® Art-175 against colistin-resistant mcr-1-positive *Escherichia coli* isolates. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2018; 51(3): 528–9.
41. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States; 2019. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>
42. Lai M.J., Lin N.T., Hu A., Soo P.C., Chen L.K., Chen L.H., et al. Antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* phage varphiAB2 endolysin (LysAB2) against both gram-positive and gram-negative bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 90(2): 529–39.
43. Lood R., Winer B.Y., Pelzek A.J., Diez-Martínez R., Thandar M., Euler C.W., et al. Novel phage lysin capable of killing the multidrug-resistant gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii* in a mouse bacteremia model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015; 59(4): 1983–91. <https://doi.org/10.1128/AAC.04641-14>
44. Raz A., Serrano A., Hernandez A., Euler C.W., Fischetti V.A. Isolation of phage lysins that effectively kill *Pseudomonas aeruginosa* in mouse models of lung and skin infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019; 63(7): e00024-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00024-19>
45. ContraFect Corporation. Exebacase. Available at: <https://www.contrafect.com/pipeline/exebacase>
46. Легоцкий С.А. Получение, изучение свойств, стабилизация рекомбинантного эндוליцина бактериофага S-394 и разработка способа эффективного лизиса грамотрицательных бактерий: Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. М.; 2016.
47. Чертков О.В. Цитолитические ферменты бактериофага фКЗ *Pseudomonas aeruginosa*: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2017.
48. Skorynina A.V., Pilgrimova E.G., Kazantseva O.A., Kulyabin V.A., Baicher S. D., Ryabova N.A., et al. *Bacillus*-infecting bacteriophage Izhevsk harbors thermostable endolysin with broad range specificity. *PLoS One.* 2020; 15(11): e0242657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242657>
49. Popova A.V., Shneider M.M., Arbatsky N.P., Kasimova A.A., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., et al. Specific interaction of novel *Friunavirus* phages encoding tailspike depolymerases with corresponding *Acinetobacter baumannii* capsular types. *J. Virol.* 2020; 95(5): e01714-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.01714-20>
50. Antonova N.P., Vasina D.V., Lendel A.M., Usachev E.V., Makarov V.V., Gintsburg A.L., et al. Broad bactericidal activity of the *Myoviridae* bacteriophage lysins LysAm24, LysECD7, and LysSi3 against gram-negative ESKAPE pathogens. *J. Viruses.* 2019; 11(3): 284. <https://doi.org/10.3390/v11030284>
51. Fursov M.V., Abdrakhmanova R.O., Antonova N.P., Vasina D.V., Kolchanova A.D., Bashkina O.A., et al. Antibiofilm activity of a broad-range recombinant endolysin LysECD7: *in vitro* and *in vivo* study. *J. Viruses.* 2020; 12(5): 545. <https://doi.org/10.3390/v12050545>

REFERENCES

1. WHO. Global action plan on antimicrobial resistance. Geneva; 2015. Available at: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>
2. Fischetti V.A. Development of phage lysins as novel therapeutics: a historical perspective. *Viruses*. 2018; 10(6): 310–9. <https://doi.org/10.3390/v10060310>
3. Leiman P.G., Chipman P.R., Kostyuchenko V.A., Mesyanzhinov V.V., Rossmann M.G. Three-dimensional rearrangement of proteins in the tail of bacteriophage T4 on infection of its host. *Cell*. 2004; 118(4): 419–29. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.022>
4. Kanamaru S., Leiman P.G., Kostyuchenko V.A., Chipman P.R., Mesyanzhinov V.V., Arisaka F., et al. Structure of the cell-puncturing device of bacteriophage T4. *Nature*. 2002; 415(6871): 553–7. <https://doi.org/10.1038/415553a>
5. Oliveira H., São-José C., Azeredo J. Phage-derived peptidoglycan degrading enzymes: challenges and future prospects for in vivo therapy. *Viruses*. 2018; 10(6): 292. <https://doi.org/10.3390/v10060292>
6. Roach D.R., Donovan D.M. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. *Bacteriophage*. 2015; 5(3): e1062590. <https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1062590>
7. Young R. Phage lysis: three steps, three choices, one outcome. *J. Microbiol.* 2014; 52(3): 243–58. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4087-z>
8. Stone R. Bacteriophage therapy. Stalin's forgotten cure. *Science*. 2002; 298(5594): 728–31. <https://doi.org/10.1126/science.298.5594.728>
9. Schmelcher M., Donovan D.M., Loessner M.J. Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Fut. Microbiol.* 2012; 7(10): 1147–71.
10. Loessner M.J., Kramer K., Ebel F., Scherer S. C-terminal domains of *Listeria monocytogenes* bacteriophage murein hydrolases determine specific recognition and high-affinity binding to bacterial cell wall carbohydrates. *Mol. Microbiol.* 2002; 44(2): 335–49. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02889.x>
11. Loessner M.J. Bacteriophage endolysins – current state of research and applications. *Curr. Opin. Microbiol.* 2005; 8(4): 480–7. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.002>
12. Rodriguez-Rubio L., Gutierrez D., Donovan D.M., Martinez B., Rodriguez A., Garcia P. Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2016; 36(3): 542–52. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.993587>
13. Oliveira H., Vilas Boas D., Mesnage S., Kluskens L.D., Lavigne R., Sillankorva S., et al. Structural and enzymatic characterization of ABgp46, a novel phage endolysin with broad anti-Gram-negative bacterial activity. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 1–9. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00208>
14. Cheng X., Zhang X., Pflugrath J.W., Studier F.W. The structure of bacteriophage T7 lysozyme, a zinc amidase and an inhibitor of T7 RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994; 91(9): 4034–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.9.4034>
15. Briers Y., Volckaert G., Cornelissen A., Lagaert S., Michiels C.W., Hertveldt K., et al. Muralytic activity and modular structure of the endolysins of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages phiKZ and EL. *Mol. Microbiol.* 2007; 65(5): 1334–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05870.x>
16. Briers Y., Schmelcher M., Loessner M.J., Hendrix J., Engelborghs Y., Volckaert G., et al. The high-affinity peptidoglycan binding domain of *Pseudomonas* phage endolysin KZ144. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 383(2): 187–91. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.03.161>
17. Nelson D., Schuch R., Chahales P., Zhu S., Fischetti V.A. PlyC: a multimeric bacteriophage lysin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006; 103(28): 10765–70. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604521103>
18. Bateman A., Rawlings N.D. The CHAP domain: a large family of amidases including GSP amidase and peptidoglycan hydrolases. *Trends Biochem. Sci.* 2003; 28(5): 234–7. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(03\)00061-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(03)00061-6)
19. Zou Y., Hou C. Systematic analysis of an amidase domain CHAP in 12 *Staphylococcus aureus* genomes and 44 staphylococcal phage genomes. *Comput. Biol. Chem.* 2010; 34(4): 251–7. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2010.07.001>
20. Low L.Y., Yang C., Perego M., Osterman A., Liddington R. Role of net charge on catalytic domain and influence of cell wall binding domain on bactericidal activity, specificity, and host range of phage lysins. *J. Biol. Chem.* 2011; 286(39): 34391–403. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.244160>
21. Ohnuma T., Onaga S., Murata K., Taira T., Katoh E. LysM domains from *Pteris ryukyuensis* chitinase — a stability study and characterization of the chitin-binding site. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(8): 5178–87. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707156200>
22. Mesnage S., Dellarole M., Baxter N.J., Rouget J.B., Dimitrov J.D., Wang N., et al. Molecular basis for bacterial peptidoglycan recognition by LysM domains. *Nat. Commun.* 2014; 5: 4269. <https://doi.org/10.1038/ncomms5269>
23. Kashani H.H., Schmelcher M., Sabzalipoor H., Seyed Hosseini E., Moniri R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: current status of research and novel delivery strategies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2017; 31(1): e00071–17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00071-17>
24. Mayer M.J., Garefalaki V., Spoerl R., Narbad A., Meijers R. Structure-based modification of a *Clostridium difficile*-targeting endolysin affects activity and host range. *J. Bacteriol.* 2011; 193(19): 5477–86. <https://doi.org/10.1128/JB.00439-11>
25. Nelson D.C., Schmelcher M., Rodriguez-Rubio L., Klumpp J., Pritchard D.G., Dong S., et al. Endolysins as antimicrobials. *Adv. Virus Res.* 2012; 83: 299–365. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4>
26. Daniel A., Euler C., Collin M., Chahales P., Gorelick K.J., Fischetti V.A. Synergism between a novel chimeric lysin and oxacillin protects against infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(4): 1603–12. <https://doi.org/10.1128/AAC.01625-09>
27. Cheng Q., Fischetti V.A. Mutagenesis of a bacteriophage lytic enzyme PlyGBS significantly increases its antibacterial activity against group B streptococci. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 74(6): 1284–91. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0771-1>
28. Loeffler J.M., Nelson D., Fischetti V.A. Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. *Science*. 2001; 294(5549): 2170–2. <https://doi.org/10.1126/science.1066869>
29. Schmelcher M., Powell A.M., Becker S.C., Camp M.J., Donovan D.M. Chimeric phage lysins act synergistically with lysozyme to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(7): 2297–305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
30. Nelson D., Loomis L., Fischetti V.A. Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98(7): 4107–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.061038398>
31. Schuch R., Nelson D., Fischetti V.A. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis*. *Nature*. 2002; 418(6900): 884–9. <https://doi.org/10.1038/nature01026>
32. Bustamante N., Campillo N.E., García E., Gallego C., Pera B., Diakun G.P., et al. Cpl-7, a lysozyme encoded by a pneumococcal bacteriophage with a novel cell wall-binding motif. *J. Biol.*

- Chem.* 2010; 285(43): 33184–96.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.154559>
33. Diez-Martínez R., De Paz H.D., García-Fernández E., Bustamante N., Euler C.W., Fischetti V.A., et al. A novel chimeric phage lysin with high *in vitro* and *in vivo* bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015; 70(6): 1763–73.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkv038>
 34. Letrado P., Corsini B., Diez-Martínez R., Bustamante N., Yuste J.E., García P. Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Fut. Microbiol.* 2018; 13(11): 1215–23.
<https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0077>
 35. Jun S.Y., Jung G.M., Yoon S.J., Oh M.D., Choi Y.J., Lee W.J., et al. Antibacterial properties of a pre-formulated recombinant phage endolysin, SAL-1. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2013; 41(2): 156–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.10.011>
 36. Kim N.H., Park W.B., Cho J.E., Choi Y.J., Choi S.J., Jun S.Y., et al. Effects of phage endolysin SAL200 combined with antibiotics on *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018; 62(10): e00731–18.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00731-18>
 37. Briers Y., Walmagh M., Grymonprez B., Biebl M., Pirnay J.P., Defraigne V., et al. Art-175 is a highly efficient antibacterial against multidrug-resistant strains and persisters of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(7): 3774–84. <https://doi.org/10.1128/AAC.02668-14>
 38. Defraigne V., Schuermans J., Grymonprez B., Govers S.K., Aertsen A., Fauvart M., et al. Efficacy of artilysin Art-175 against resistant and persistent *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60(6): 3480–8.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00285-16>
 39. Rodríguez-Rubio L., Chang W.L., Gutiérrez D., Lavigne R., Martínez B., Rodríguez A., et al. Artilysin[®] Art-175 against colistin-resistant mcr-1-positive *Escherichia coli* isolates. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2018; 51(3): 528–9.
 41. CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States; 2019. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>
 42. Lai M.J., Lin N.T., Hu A., Soo P.C., Chen L.K., Chen L.H., et al. Antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* phage varphiAB2 endolysin (LysAB2) against both gram-positive and gram-negative bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 90(2): 529–39.
 43. Lood R., Winer B.Y., Pelzek A.J., Diez-Martínez R., Thandam M., Euler C.W., et al. Novel phage lysin capable of killing the multidrug-resistant gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii* in a mouse bacteremia model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015; 59(4): 1983–91.
<https://doi.org/10.1128/AAC.04641-14>
 44. Raz A., Serrano A., Hernandez A., Euler C.W., Fischetti V.A. Isolation of phage lysins that effectively kill *Pseudomonas aeruginosa* in mouse models of lung and skin infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019; 63(7): e00024-19.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00024-19>
 45. ContraFect Corporation. Exebacase. Available at: <https://www.contrafect.com/pipeline/exebacase>
 46. Legotskiy S.A. Preparation, study of properties, stabilization of recombinant endolysin bacteriophage S-394 and development of a method for effective lysis of gram-negative bacteria: Diss. Moscow; 2016. (in Russian)
 47. Chertkov O.V. Cytolytic enzymes of the bacteriophage ϕ KZ *Pseudomonas aeruginosa*: Diss. Moscow; 2017. (in Russian)
 48. Skorynina A.V., Pilgrimova E.G., Kazantseva O.A., Kulyabin V.A., Baicher S. D., Ryabova N.A., et al. Bacillus-infecting bacteriophage Izhevsk harbors thermostable endolysin with broad range specificity. *PLoS One.* 2020; 15(11): e0242657.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242657>
 49. Popova A.V., Shneider M.M., Arbatsky N.P., Kasimova A.A., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., et al. Specific interaction of novel *Friunavirus* phages encoding tailspike depolymerases with corresponding *Acinetobacter baumannii* capsular types. *J. Virol.* 2020; 95(5): e01714-20.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01714-20>
 50. Antonova N.P., Vasina D.V., Lendel A.M., Usachev E.V., Markarov V.V., Gintsburg A.L., et al. Broad bactericidal activity of the Myoviridae bacteriophage lysins LysAm24, LysECD7, and LysSi3 against gram-negative ESKAPE pathogens. *J. Viruses.* 2019; 11(3): 284. <https://doi.org/10.3390/v11030284>
 51. Fursov M.V., Abdrakhmanova R.O., Antonova N.P., Vasina D.V., Kolchanova A.D., Bashkina O.A., et al. Antibiofilm activity of a broad-range recombinant endolysin LysECD7: *in vitro* and *in vivo* study. *J. Viruses.* 2020; 12(5): 545.
<https://doi.org/10.3390/v12050545>

Информация об авторах

Баркова Ирина Анатольевна[✉] — к.м.н., доцент, с.н.с. лаб. оперативной диагностики бактериальных и вирусных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, baririna_10@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5036-0034>

Ижбердеева Маргарита Павловна — н.с. лаб. оперативной диагностики бактериальных и вирусных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2979-4452>

Сауткина Анастасия Александровна — н.с. лаб. оперативной диагностики бактериальных и вирусных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6302-443>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 04.11.2022;
принята к публикации 14.01.2023;
опубликована 28.02.2023

Information about the authors

Irina A. Barkova[✉] — Cand. Sci. (Med.), Associated Professor, senior researcher, Laboratory of the operative diagnostic of bacterial and viral infections, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, baririna_10@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5036-0034>

Margarita P. Izhberdeeva — researcher, Laboratory of the operative diagnostic of bacterial and viral infections, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2979-4452>

Anastasiya A. Sautkina — researcher, Laboratory of the operative diagnostic of bacterial and viral infections, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6302-4438>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 04.11.2022;
accepted for publication 14.01.2023;
published 28.02.2023

ИНФОРМАЦИЯ



ФБУН Центральный НИИ
Эпидемиологии
Роспотребнадзора

НАУКА НА СЛУЖБЕ ВАШЕГО ЗДОРОВЬЯ

Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в работе
Юбилейной конференции, посвященной
60-летию Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии

«Эпидемиология и инфекционные болезни: связь времен и поколений»

*Мероприятие включено в план научно-практических мероприятий
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека на 2023 г.*

Дата проведения: 27 октября 2023 г.

Место проведения: г. Москва, ул. Новый Арбат, 36

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора – флагман эпидемиологической науки, крупный развивающийся научно-производственный комплекс, решающий задачи в области эпидемиологического надзора, диагностики, профилактики и лечения широкого спектра инфекционной патологии человека.

Научный потенциал Института — 8 действительных членов РАН, 180 докторов и кандидатов наук, 6 лауреатов Государственных премий, 24 лауреата премий Правительства РФ и г. Москвы. 56% научных сотрудников Института — молодые ученые.

На базе Института функционируют Центр геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости, Научный центр по профилактике и борьбе со СПИДом, Научно-методический центр иммунопрофилактики Роспотребнадзора, 11 Всероссийских референс-центров Роспотребнадзора, 4 проблемных комиссии Ученого Совета Роспотребнадзора, 17 научно-исследовательских лабораторий и 10 научных групп.

Институт является одним из крупнейших в России высокотехнологичных импортозамещающих биотехнологических предприятий по производству современных диагностических препаратов.

Организаторы Юбилейной конференции:

- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;
- ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора;
- Российская академия наук;
- Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов;
- Национальная ассоциация специалистов по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского.

К участию в работе конференции приглашены ведущие специалисты в области эпидемиологии и инфекционных болезней, специалисты Роспотребнадзора, специалисты центров гигиены и эпидемиологии, терапевты, пульмонологи, гастроэнтерологи,

фтизиатры, иммунологи, специалисты лабораторной диагностики, микробиологи и вирусологи, научные сотрудники клинических отделов НИИ, преподаватели кафедр терапии, инфекционных болезней и эпидемиологии различных медицинских вузов страны.

Научная программа Конференции

- История развития ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
- Ведущие учёные ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
- Вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия Российской Федерации
- Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора и биобезопасности страны
- Актуальные проблемы инфекционных болезней на современном этапе: этиология, эпидемиология, клиника, диагностика и профилактика
- COVID-19: изменчивость вируса SARS-CoV-2, эпидемиология новой коронавирусной инфекции, клиника, новые подходы к диагностике, эпидемиологический надзор и эпидемиологический контроль
- Молекулярная диагностика в онкологии
- Устойчивость к антимикробным препаратам: клиническая практика и пищевая безопасность
- Эпидемиологический надзор и диагностика инфекционных болезней:
 - ОРВИ и гриппа,
 - ВИЧ-инфекции,
 - вирусных гепатитов,
 - особо опасных и природно-очаговых инфекций,
 - инфекций с фекально-оральным механизмом передачи,
 - микобактериальных инфекций,
 - инфекций органов репродукции и внутриутробных инфекций,
 - оппортунистических инфекций
- Геномные исследования по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости

В рамках Юбилейной конференции будет проводиться конференция молодых ученых

К участию в конференции молодых ученых приглашаются ординаторы, аспиранты, врачи и научные сотрудники в возрасте до 35 лет.

Для участия в конференции необходимо до **1 июня 2023 г.** прислать заявку, аннотацию работы на электронный адрес: uglevas@bk.ru

Форма заявки:

- название работы, резюме
- ФИО,
- дата рождения,
- должность,
- учёная степень (при наличии),
- если учащийся — указать (аспирант, ординатор — специальность),
- организация,
- город и страна,
- номер телефона,
- адрес электронной почты для связи с автором.

Контактное лицо по вопросам формирования научной программы Конференции:

Углева Светлана Викторовна (ответственный секретарь), д.м.н., доцент

e-mail: uglevas@bk.ru

тел. сл.: +7 495 974 96 46, доб. 1122

тел. моб.: +7 905 360 87 77

Выставка

В рамках конференции будет организована работа выставочной экспозиции, на которой будут представлены современные технологии, диагностические и лекарственные препараты, лабораторное оборудование и оборудование для проведения про-

тивоэпидемических и профилактических мероприятий, вспомогательные средства.

Официальный Технический организатор: ООО «ЭКСПО ПРЕСС», 129515, Москва, ул. Академика Королева, д. 13, ИНН / КПП 7702630380/771701001.

По вопросам участия в выставке обращаться к руководителю проекта

Львову Михаилу Геннадьевичу

e-mail: lvov.m.g@inbox.ru

тел. +7 495 617 36 79

Более подробная информация о мероприятии,
а также регистрация на конференцию доступны на образовательном портале

www.expodata.info