

2022

НОЯБРЬ–ДЕКАБРЬ
NOVEMBER–DECEMBER

Том 21, № 6

Vol. 21, No 6

Эпидемиология и Вакцинопрофилактика

Epidemiology and Vaccinal Prevention

Научно-практический журнал

Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций,
связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»)

**Лихорадка КУ в Российской Федерации:
взгляд на заболеваемость через призму
уровня развития лабораторной диагностики**

4

**Доклинические исследования специфической
активности живой культуральной вакцины
VACΔ6 против оспы и других ортопоксвирусных
инфекций**

33

**Иммуногенность и безопасность
четырёхвалентной менингококковой вакцины,
конъюгированной со столбнячным анатоксином
(MenACYW-TT), при одновременном введении
с пневмококковой конъюгированной вакциной
здоровым детям раннего возраста
в Российской Федерации: рандомизированное
исследование фазы III**

64

12+

Эпидемиология Вакцинопрофилактика

Научно-практический журнал

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР: Брико Н. И., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА: Акимкин В. Г., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: Брусина Е. Б., чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор (Кемерово, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ: Миндлина А. Я., д. м. н., доцент (Москва, Россия)

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ: Ботвинкин А. Д., д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); Ковалишена О. В., д. м. н., профессор (Нижегород, Россия); Костинов М. П., чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Кузин А. А., д. м. н. (Санкт-Петербург, Россия); Полибин Р. В., к. м. н., доцент (Москва, Россия); Савилов Е. Д., д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); Семенов Т. А., д. м. н., профессор (Москва, Россия); Ткаченко А. Е., д. м. н., профессор (Москва, Россия); Фельдблюм И. В., д. м. н., профессор (Пермь, Россия); Цвиркун О. В., д. м. н., доцент (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ: Балахонov С. В., д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); Борисова В. Н., к. х. н. (Москва, Россия); Васин А. В., д. б. н., (Санкт-Петербург, Россия); Горелов А. В., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Жанг Ф., д. м. н. (Харбин, Китай); Зверев В. В., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Злобин В. И., академик РАН, д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); Иванова О. Е., д. м. н. (Москва, Россия); Ишмухаметов А. А., чл.-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Коломиец Н. Д., д. м. н., профессор (Минск, Республика Беларусь); Коренберг Э. И., д. б. н., профессор (Москва, Россия); Королева И. С., д. м. н. (Москва, Россия); Крамер А., д. м. н., профессор (Грейсвальд, Германия); Львов Д. К., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); ван дер Линден М., к. м. н. (Аахен, Германия); Малов И. В., д. м. н., профессор (Иркутск, Россия); Медуницын Н. В., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Меркулов В. А., д. м. н., профессор (Москва, Россия); Михеева И. В., д. м. н., профессор (Москва, Россия); Наттелл П. А., профессор (Оксфорд, Великобритания); Онищенко Г. Г., академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия); Петрунов Б., академик БАН и иностранный член РАН, д. м. н., профессор (София, Болгария); Попова А. Ю., д. м. н., профессор (Москва, Россия); Рудаков Н. В., д. м. н., профессор (Омск, Россия); Стасенко В. Л., д. м. н., профессор (Омск, Россия); Стома И. О., д. м. н. (Гомель, Республика Беларусь); Титов Л. П., чл.-корр. Национальной академии наук Беларуси, иностранный член РАН, д. м. н., профессор (Минск, Республика Беларусь); Тотолян А. А., академик РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Саардак А. М. – шеф-редактор

EPIDEMIOLOGY & VACCINAL PREVENTION

Scientific and Practical Journal

EDITOR-IN-CHIEF: Nikolay I. Briko, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of F. Erisman Institute of Public Health, Head of Department of Epidemiology and Evidence-Based Medicine of the Sechenov University (Moscow, Russia)

DEPUTIE EDITOR-IN-CHIEF: Vasilij G. Akimkin, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of Federal Budget Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Moscow, Russia)

SCIENTIFIC EDITOR: Elena B. Brusina, the RAS corresponding member, Dr. Sci. (Med.), Professor (Kemerovo, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY: Alla Ya. Mindlina, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD MEMBERS: Alexandr D. Botvinkin, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); Olga V. Kovalishena, Dr. Sci. (Med.), Professor (Nizhny Novgorod, Russia); Mikhail P. Kostinov, the RAS corresponding member, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Alexandr A. Kuzin, Dr. Sci. (Med.) (St. Petersburg, Russia); Roman V. Polibin, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor (Moscow, Russia); Evgeny D. Savilov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); Tatiana A. Semenenko, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Evgeny A. Tkachenko, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Irina V. Fel'dblum, Dr. Sci. (Med.), Professor (Perm, Russia); Olga V. Tsvircun, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (Moscow, Russia)

EDITORIAL COUNCIL MEMBERS: Sergey V. Balahonov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); Vera N. Borisova, Cand. Sci. (Chem.) (Moscow, Russia); Andrey V. Vasin, Dr. Sci. (Biol.) (St. Petersburg, Russia); Alexandr V. Gorelov, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Fengmin Zhang, Dr. Sci. (Med.) (Harbin, China); Vitaliy V. Zverev, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Vladimir I. Zlobin, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Irkutsk, Russia); Olga E. Ivanova, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia); Aidar A. Ishmuhametov, the RAS corresponding member, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Natalia D. Kolomic, Dr. Sci. (Med.), Professor (Minsk, Republic of Belarus); Eduard I. Korenberg, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Moscow, Russia); Irina S. Korolyova, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia); Alexandr Kramer, Dr. Sci. (Med.), Professor (Greifswald, Germany); Dmitry K. L'vov, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Mark van der Linden, Cand. Sci. (Med.) (Aachen, Germany); Valery A. Malov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Nikolai V. Medunitsyn, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Irina V. Mikheeva, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Patricia NatteLL, Professor (Oxford, UK); Gennadiy G. Onishchenko, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Bogdan Petrunov, Academician of the Bulgarian, foreign member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor (Sofia, Bulgaria); Anna Yu. Popova, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia); Nikolay V. Rudakov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Omsk, Russia); Vladimir L. Stasenko, Dr. Sci. (Med.), Professor (Omsk, Russia); Igor O. Stoma, Doctor of Medical Sciences (Gomel, Republic of Belarus); Leonid P. Titov, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, foreign member of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor (Minsk, Republic of Belarus); Areg A. Totolian, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (St. Petersburg, Russia)

A. M. Saardak – editor-in-chief.

Журнал входит в перечень изданий, которые рекомендованы ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук. С требованиями к статьям авторы могут ознакомиться на сайте: www.epidemvac.ru. Полная версия журнала в электронном виде доступна на сайтах журнала и Российской электронной библиотеки (www.elibrary.ru). DOI: 10.31631/2073-3046. Журнал входит в Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, Scopus. Journal is included in the List of the leading peer-reviewed scientific journals and publications, in which major scientific results of the thesis for the degree of Doctor of Science or Candidate of Science should be published. Recommendations for authors can find out on the website: www.epidemvac.ru/jour Journal is included in the international database Ulrich's Periodicals Directory, EBSCO, Scopus.
ISSN (Print) 2073-3046
ISSN (Online) 2619-0494



В НОМЕРЕ

Проблемные статьи

- Лихорадка КУ в Российской Федерации: взгляд на заболеваемость через призму уровня развития лабораторной диагностики
Т. А. Чеканова, К. Петремгвдлшвили 5

Оригинальные статьи

- Особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в период пандемии
И. А. Егоров, С. С. Смирнова, В. А. Мищенко, И. В. Вялых, А. Ю. Маркарян, Н. Н. Жуйков, С. В. Романов, А. В. Пономарёва, И. В. Чистякова, А. С. Киячина, О. Ю. Аверьянов, В. А. Смирнова, А. Н. Большакова, Е. В. Верник, Н. А. Пушкарёва, А. В. Семёно 13

- Сравнительный анализ разнообразия линий SARS-CoV-2, циркулирующих в Омской области в 2020–2022 годах
Е. А. Градобоева, Ж. С. Тюлько, А. В. Фадеев, А. Г. Василенко, В. В. Якименко 24

- Доклинические исследования специфической активности живой культуральной вакцины VACΔ6 против оспы и других ортопоксвирусных инфекций
С. Н. Щелкунов, С. Н. Якубицкий, А. Е. Нестеров, И. В. Колосова, А. А. Сергеев, А. В. Зайковская, А. С. Кабанов, Е. А. Нечаева, М. П. Богрянцева, С. В. Усова, Н. С. Куцерубова, Т. В. Трегубчак, Е. В. Гаврилова, Р. А. Максютов 34

- Многолетняя динамика смертности ВИЧ-инфицированных и факторы риска летального исхода при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза
В. И. Сергеев, О. В. Тукачёва, О. Е. Микова, М. В. Рожкова 48

- Актуальные серотипы *Streptococcus pneumoniae*, циркулировавшие на территории Свердловской области в 2020–2021 годах
Е. В. Болгарова, Ю. А. Захарова, И. С. Мухачев, И. А. Короткова, И. А. Иващенко, А. В. Остапчук, О. И. Мамонтов 59

Практические аспекты эпидемиологии и вакцинопрофилактики

- Иммуногенность и безопасность четырёхвалентной менингококковой вакцины, конъюгированной со столбнячным анатоксином (MenACYW-TT), при одновременном введении с пневмококковой конъюгированной вакциной здоровым детям раннего возраста в Российской Федерации: рандомизированное исследование фазы II
Л. С. Намазова-Баранова, О. А. Перминова, Т. А. Романова, В. В. Романенко, А. Н. Галустян, В. Н. Городин, И. В. Осипова, В. Ю. Родникова, С. М. Харит, Ю. В. Ковширина, В. А. Анохин, С. Б. Чир, Д. Невё, М. Бонапарт, Г. Аньес, Э. Иорданов, М. С. Дхингра, А. В. Гольдштейн 65

- Клинико-эпидемиологические особенности актуальных клещевых инфекций в условиях массовой вакцинации населения против клещевого вирусного энцефалита (на примере мегаполиса)
В. А. Мищенко, И. В. Вялых, А. Г. Сергеев, И. П. Быков, М. Г. Топоркова, В. И. Чалапа 82

- Прямая детекция антител к *Yersinia pestis* с использованием стеклянных микроструктурных волноводов как экспресс-метод оценки сероконверсии у привитых против чумы лиц
О. М. Кудрявцева, Ю. С. Скибина, В. А. Кожевников, С. А. Бугоркова, М. В. Чайников, А. Ю. Грязнов, Д. Е. Глухов, С. С. Коннова, А. А. Шувалов, Т. Н. Шуковская 89

- Синергический эффект ферментных препаратов и гентамицина на биоплёнку *Bordetella pertussis*
Е. М. Зайцев, М. В. Брицина, М. Н. Озерецковская, И. Г. Бажанова 97

Информация НАСКИ

- Позиция Экспертов Союза педиатров России в отношении ухудшения глобальной ситуации с вирусом полиомиелита 104

Информация Роспотребнадзора

- ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора назначен в качестве референс-центра ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам 58

Информация ВОЗ

- Всемирный день борьбы со СПИДом 2022 г. «Лакмусовая бумажка» для определения возможности элиминации – дети и ключевые группы населения 81

Информация Национального научно-методического центра по надзору за корью и краснухой

- Совершенствование эпидемиологического надзора за корью, Краснухой и эпидемическим паротитом в Российской Федерации 107

Некролог

- Миртазаев Омонтурди 108

Информация для авторов:

<https://www.epidemvac.ru/jour/about/submissions>

Журнал зарегистрирован Роскомнадзором РФ: Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-79582 от 27 ноября 2020 г.
©Учредители: ООО "Нумиком", ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Некоммерческое партнерство «Национальная ассоциация по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи»: <http://nasci.ru>. ©Издатель ООО «Нумиком»: ул. Верхняя Красносельская, 10-1-57, 107140, Москва, Россия. Редакция журнала «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика»: Макет и верстка – О. Крайнова. Корректор – Е. Л. Ясинская. Адрес: ул. Верхняя Красносельская, 10-1-57, 107140, Москва, Россия. Тел. +7 926 480 73 84. E-mail: epidemvac@yandex.ru. Сайты: www.epidemvac.ru, www.epidemvac.ru/en. Тираж: 2500 экз. Отпечатано в ООО «Тверская фабрика печати»: Беляковский пер., 46, Тверь, Россия. Подписка через ООО «УП УРАЛ-ПРЕСС».

CONTENTS

Problem-Solving Article

- Q Fever in the Russian Federation: a View on Incidence through the Level of Development of Laboratory Diagnosis
TA Chekanova, K Petremgvdlshvili 5

Original Articles

- Characteristic of Viral and Bacterial Contamination in Objects of the Infection Hospital Environment of the Hospital for the Treatment of Patients with COVID-19 During the Pandemic Period
IA Egorov, SS Smirnova, VA Mishchenko, IV Vialykh, AYU Markarian, NN Zhuikov, SV Romanov, AV Ponomareva, IV Chistiakova, AS Kiliachina, OYu Averianov, VA Smirnova, AN Bolshakova, EV Vernik, NA Pushkareva, AV Semenov 13

- Comparative Analysis of the Diversity of SARS-CoV-2 Lines Circulating in Omsk Region in 2020–2022
EA Gradoboeva, ZhS Tyulko, AV Fadeev, AG Vasilenko, VV Yakimenko 24

- Preclinical Studies of the Specific Activity of the Live Culture Vaccine VACΔG against Smallpox and other Orthopoxvirus Infections
SN Shchelkunov, SN Yakubitskiy, AE Nesterov, IV Kolosova, AA Sergeev, AV Zaykovskaya, AS Kabanov, EA Nechaeva, MP Bogryantseva, SV Usova, NS Kutserubova, TV Tregubchak, EV Gavrilova, RA Maksyutov 34

- Long-Term Dynamics of HIV-Infected Mortality and Risk Factors of the Lethal Outcome in the Presence and Absence of Concomitant Tuberculosis
VI Sergevnnin, OV Tukacheva, OE Mikova, MV Rozhkova 48

- Current *Streptococcus pneumoniae* Serotypes in Sverdlovsk Region in 2020–2021
EV Bolgarova, YuA Zakharova, IS Mukhachev, IA Korotkova, IA Ivashchenko, AV Ostapchuk, OI Mamontov 59

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

- Immunogenicity and Safety of a Quadrivalent Meningococcal Tetanus Toxoid-Conjugate Vaccine (MenACYW-TT) Administered Concomitantly with Pneumococcal Conjugate Vaccine in Healthy Toddlers in the Russian Federation: a Phase III Randomized Study
LS Namazova-Baranova, OA Perminova, TA Romanova, VV Romanenko, AN Galustyan, VN Gorodin, IV Osipova, VYu Rodnikova, SM Kharit, YuV Kovshirina, VA Anokhin, S B'Chir, D Neveu, M Bonaparte, G Áñez, E Jordanov, MS Dhingra, AV Goldstein 65

- Clinical and Epidemiological Features of Actual Tick-Borne Infections under Conditions of Mass Vaccination against Tick-Borne Viral Encephalitis (by the Example of a Megapolis)
VA Mishchenko, IV Vyalykh, AG Sergeev, IP Bykov, MG Toporkova, VI Chalapa 82

- Direct Detection of Antibodies to *Yersinia pestis* Using Glass Microstructural Waveguides as an Express Method for Assessing Seroconversion in Individuals Vaccinated against Plague
OM Kudryavtseva, YuS Skibina, VA Kozhevnikov, SA Bugorkova, MV Chainikov, AYU Gryaznov, DE Glukhov, SS Konnova, AA Shuvalov, TN Shchukovskaya 89

- Synergistic Effect of Enzyme Preparations and Gentamycin on Biofilms of *Bordetella pertussis*
EM Zaitsev, MV Britsina, MN Ozeretskovskaya, IG Bazhanova 97

NASCI Information

- Position of Experts of the Union of Pediatricians of Russia Regarding the Worsening Global Situation with Poliomyelitis Virus 104

Information of Rospotrebnadzor

- Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor Appointed as FAO Reference Center for Antimicrobial Resistance 58

Information of WHO

- World AIDS Day 2022
Elimination Litmus test – Children and Key Populations 81

Information of National Scientific and Methodological Center for Epidemiological Surveillance of Measles and Rubella

- Improving the Epidemiological Surveillance of Measles, Rubella and Mumps in the Russian Federation 107

Obituary

- Murtaazaev Omonturdy 108

Information for Authors:

<https://www.epidemvac.ru/jour/about/submissions>



Дорогие коллеги!

Сердечно поздравляю Вас с наступающим 2023 годом!

За год уходящий нам многое удалось сделать в области профилактики инфекционных болезней, борьбы с новой коронавирусной инфекцией, реализации национальных проектов, направленных на сохранение и укрепление здоровья населения страны.

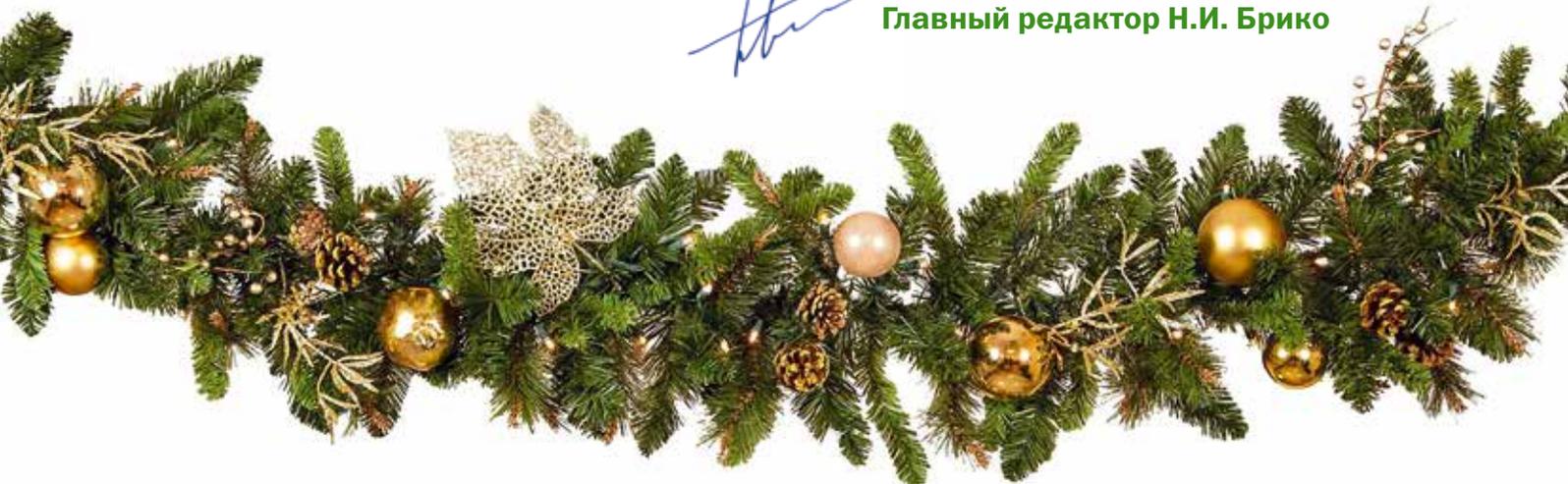
Это был год 100-летия со дня образования Государственной санитарно-эпидемиологической службы страны. Успешно проведен объединённый съезд эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и гигиенистов, где подведены итоги работы, намечены планы на будущее.

Я желаю, чтобы будущий год прошел гораздо ярче, интереснее и продуктивнее. Пусть он принесёт всем нам много радостных событий и новостей, новаторских достижений в профессиональном плане. Чтобы новые начинания приносили новые победы. Желаю, чтобы Вы чувствовали себя уверенно, спокойно и стабильно!

Здоровья Вам и пусть будут здоровы Ваши близкие и родные люди.
Счастья, позитива, добра и успеха!

С глубоким уважением и добрыми чувствами

Главный редактор Н.И. Брико



<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-5-12>

Лихорадка КУ в Российской Федерации: взгляд на заболеваемость через призму уровня развития лабораторной диагностики

Т. А. Чеканова*, К. Петремгвдлишвили

ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Резюме

Актуальность. Лихорадку Ку в отсутствии патогномичных признаков сложно верифицировать клинически, поэтому показатель заболеваемости коксиеллезом напрямую зависит от уровня его лабораторной диагностики. **Цель.** Анализ заболеваемости людей лихорадкой Ку в Российской Федерации за период её официальной регистрации (1957–2021 гг.) наряду с оценкой уровня лабораторной диагностики заболевания в разные годы. Высокий интерес к лихорадке Ку в середине прошлого века дал толчок налаживанию коммерческого выпуска инактивированных антигенов коксиелл и диагностикомов. Возникший впоследствии дефицит экономически доступных диагностических препаратов отразился и на официальных показателях заболеваемости лихорадкой Ку. Гиподиагностика обусловлена не только сложностью клинического распознавания инфекции, но и, как правило, отсутствием возможности проведения комплексного исследования клинического материала (выявление антител и ДНК возбудителя). В работе приведены исторические факты, помогающие понять подъёмы и спады заболеваемости лихорадкой Ку в течение всего периода её официальной регистрации. **Выводы.** Анализ эпидемиологической ситуации следует проводить с учётом оценки уровня диагностики лихорадки Ку в регионах и стране в целом. Целесообразен учёт всех впервые выявленных случаев заболевания в любой его стадии.

Ключевые слова: лихорадка Ку, коксиеллез, *Coxiella burnetii*, заболеваемость, диагностика, методы
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Чеканова Т. А., Петремгвдлишвили К. Лихорадка КУ в Российской Федерации: взгляд на заболеваемость через призму уровня развития лабораторной диагностики. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6):5–12. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-5-12>

Q Fever in the Russian Federation: a View on Incidence through the Level of Development of Laboratory Diagnosis

TA Chekanova**, K Petremgvdlishvili

Central Research Institute of Epidemiology, Rospotrebnadzor, Moscow

Abstract

Relevance. Q fever in the absence of pathognomic signs is difficult to verify, so the incidence rate of coxiellosis depends on the level of its laboratory diagnosis. **Aim.** To analyze the incidence of Q fever in the Russian Federation for the time of its official registration (1957–2021) with an assessment of the level of laboratory diagnosis of diseases in different years. The high interest to Q fever in the middle of the last century gave impetus to the commercial production of inactivated *Coxiella* antigens and kits. The subsequent shortage of economically available diagnostic kits reflected in the official incidence of Q fever. Hypodiagnosis is caused not only by the clinical incidence of infection, but also often by the lack of the possibility of conducting a comprehensive clinical study of the material (detection of antibodies and DNA pathogen). The article presents historical facts for understanding of the rise and incidence of Q fever during the time of its official registration. **Conclusions.** An analysis of the epidemiological situation should be carried taking into account the assessment of the level of diagnosis of Q fever in the regions and the country as a whole. It is necessary to record all newly diagnosed cases of the disease at any stage.

Keywords: Q fever, coxiellosis, *Coxiella burnetii*, incidence, diagnosis, methods
No conflict of interest to declare

For citation: Chekanova T.A., Petremgvdlishvili K. Q Fever in the Russian Federation: a View on Incidence through the Level of Development of Laboratory Diagnosis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6):5–12 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-5-12>

* Для переписки: Чеканова Татьяна Александровна, к. б. н., заведующая лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д.3а. +7 (903) 195-26-42, tchekanova74@mail.ru. ©Чеканова Т. А. и др.

** For correspondence: Chekanova Tatiana A., Cand. Sci. (Bio), Head of Laboratory for Natural Focal Infection Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Rospotrebnadzora, 3A, Novogireyevskaya Street, Moscow, 111123, Russia. +7 (903) 195-26-42, tchekanova74@mail.ru. ©Chekanova TA, et al.

Введение

Лихорадка Ку (лихорадка Q, коксиеллёз) является широко распространенным в мире зоонозом. Первые случаи заболевания среди фермеров и рабочих скотобоев в Брисбене, штате Квинсленд Австралии описаны в 1937 г. Эдвардом Холбруком Дерриком [1]. Инфекция была названа лихорадкой Q (от англ. query – неясный) по причине скудных в то время сведений о ней, и сейчас оправдывает своё название из-за сложности диагностики, которую затрудняют полиморфизм клинических симптомов и часто встречаемое (до 60%) бессимптомное или стёртое течение болезни [2,3]. Инфицирование нередко устанавливают ретроспективно, как правило, при проведении работ научно-исследовательского характера. Осложнения, которые могут быть фатальными для больного при отсутствии своевременного лечения; склонность к хронизации инфекционного процесса; высокая инвазивность и вирулентность возбудителя; устойчивость патогена во внешней среде; множественность путей передачи предопределили отнесение этиологического агента лихорадки Ку – *Coxiella burnetii* – к микроорганизмам II группы патогенности.

Долгое время возбудитель *C. burnetii* считали риккетсией, однако анализ последовательности гена 16S рРНК и филогенетический анализ 20 высококонсервативных белков окончательно определили его таксономическое положение, исключив из группы α -протеобактериальных риккетсий, признав γ -протеобактерией [4,5]. Его самая близкая связь установлена с *Legionella pneumophila*. Несмотря на уточнение таксономической позиции возбудителя, лихорадку Ку нередко ошибочно продолжают относить к риккетсиозам.

Жвачные животные (прежде всего, козы и овцы) являются основными резервуарными хозяевами патогена [6]. Аборты у инфицированных животных приводят к выбросу большого количества бактерий в окружающую среду. Вдыхание загрязнённых аэрозолей служит главным путём передачи инфекции человеку. По статистике, почти в каждой лаборатории, где проводятся работы по культивированию *C. burnetii*, несмотря на высокий уровень биологической безопасности, отмечены случаи профессионального заражения [7]. Заражение может происходить непосредственно в природных очагах, а также на удалённых от них территориях при переносе патогена ветром. Случаи Ку-лихорадки, когда не фиксировались прямые контакты заболевших с животными, довольно часты. Несмотря на то, что при коксиеллёзе трансмиссивный механизм заражения не считается ведущим, доказано, что клещи выделяют большое количество *C. burnetii* с коксальной жидкостью и фекалиями. Риск заражения возникает не только при их присасывании, но и при прямом контакте с ними (раздавливании) [8]. Инфицирование человека коксиеллами может происходить также алиментарным путём.

Не вызывает сомнения важность проведения эпидемиологического мониторинга коксиеллёза и прогнозирования эпидемиологической ситуации [9,10]. Беспрецедентная вспышка Q-лихорадки в Нидерландах в 2007–2010 гг. с числом заразившихся более 4000 человек лишней раз подчеркивает её высокий эпидемический потенциал [11]. Лихорадка Ку требует пристального внимания также в связи с потенциальной возможностью использования возбудителя для биотеррористических атак.

Показатель заболеваемости той или иной инфекцией, что справедливо не только в отношении лихорадки Ку, напрямую зависит от уровня лабораторной диагностики. Снижение количества больных не всегда свидетельствует об улучшении эпидемиологической ситуации, иногда это может быть обусловлено гиподиагностикой заболевания. Поэтому при прогнозировании эпидемиологической ситуации и для понимания эпидемического потенциала заболевания, особенно в отсутствие патогномичных признаков, важно провести объективную оценку диагностики, чтобы понять причины колебаний инцидентности в разные временные периоды.

Цель данной работы – анализ заболеваемости людей лихорадкой Ку в Российской Федерации за весь период её официальной регистрации (1957–2021 гг.) наряду с оценкой уровня лабораторной диагностики заболевания в разные годы.

Материалами для исследования послужили литературные данные, интернет-источники, статистические формы учёта Роспотребнадзора (форма 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», формы 2-19 и 2-20 «Сведения о деятельности лабораторий санитарно-гигиенического, микробиологического и паразитологического профиля федеральных бюджетных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии»), официальные сведения Росздравнадзора и Росстата.

Заболеваемость лихорадкой Ку в РФ в 1957–2021 гг. и уровень диагностических исследований в разные годы

В России лихорадка Ку подлежит официальной регистрации с 1957 г. За все годы наблюдения зарегистрировано 13 887 случаев коксиеллёза у людей. Максимальный показатель заболеваемости отмечен в первый год регистрации – 1957 г. (1 241 случай), минимальный (8 случаев) – в 2020 г. (начало пандемии COVID-19).

Анализируя заболеваемость коксиеллёзом у людей в РФ, можно условно выделить следующие временные этапы:

- 1957–1964 гг. – 8-летний период с самыми высокими показателями заболеваемости за весь период наблюдения – не ниже 427 случаев в год, медиана (ME) [интерквартильный интервал] = 522,5 [427–1241], общий тренд

к снижению заболеваемости в этот период объясняется рекордно высоким числом выявленных больных в первый год официальной регистрации;

- 1965–1987 гг. – период относительной стабилизации уровня заболеваемости с небольшой тенденцией к увеличению, в течение которого наблюдались циклические колебания; ME [интерквартильный интервал] = 214 [106–330];
- 1988–2021 гг. – эпидемический процесс с выраженными циклическими изменениями, с учётом 2020 г. и 2021 г. с небольшой тенденцией к снижению, ME [интерквартильный интервал] = 116,5 [8–286]; без учёта двух лет пандемии COVID-19, т.е. 1988–2019 гг. – без снижения среднесного показателя заболеваемости, ME [интерквартильный интервал] = 119 [17–286].

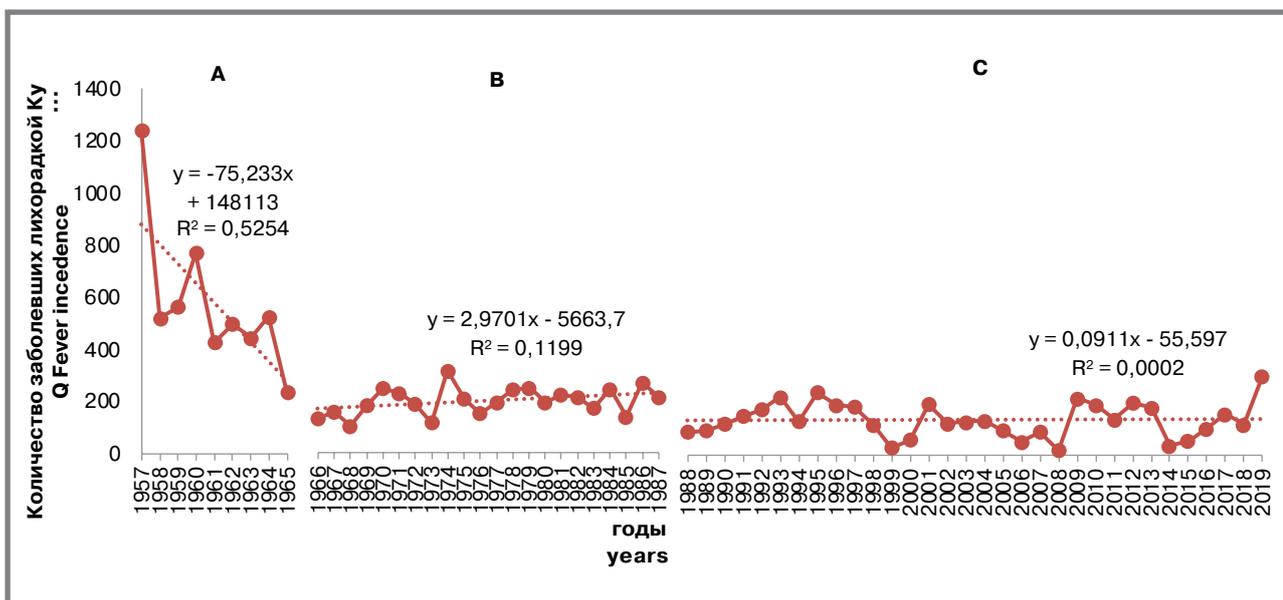
На рисунке 1 представлены графические изображения проявления эпидемического процесса лихорадки Ку в РФ в разные временные периоды (без учёта двух лет пандемии COVID-19) на основании данных официальной статистики заболеваемости.

Уровень лабораторной диагностики определяется, прежде всего, доступностью для учреждений здравоохранения диагностических препаратов, что отражается на объёмах проводимых исследований среди населения для верификации диагноза. Ниже приведём исторические факты, которые отчасти объясняют причины подъёмов и спадов заболеваемости лихорадкой Ку в разные годы.

Когда коксиеллёз к началу 50-х годов прошлого века уже был выявлен в 51 стране на пяти континентах, советские исследователи активно подключаются к его изучению: организуются

экспедиции в разные регионы страны для выяснения географии распространения возбудителя заболевания, исследования его свойств и экологии. В Советском Союзе в 1952 г. М. П. Чумаков, изучая микроорганизм, выделенный доктором А. И. Шифриным от лихорадящего больного, сначала предположил, а потом и доказал, что возбудителем т.н. «термезской лихорадки» в Узбекистане явилась *Rickettsia burneti* (первое название возбудителя лихорадки Ку *S. burnetii*). Вскоре стало очевидным, что и ранее регистрировавшееся в этом регионе заболевание со схожими симптомами имело ту же природу. Этиология заболевания была установлена ретроспективно с применением доступных серологических методов, что было бы невозможным без инактивированных антигенов для диагностики лихорадки Ку. Первые антигены удовлетворительного качества из инактивированных коксиелл начали производить в СССР уже в 1951–1952 гг., вначале из итало-греческого штамма Грита, полученного в 1948 г. от профессора Герцберга (Германская Демократическая Республика), а позже – из румынского штамма Констанца [12]. Для нужд практического здравоохранения инактивированные антигены поначалу получали в ограниченном количестве, по большей части они производились в НИИ эпидемиологии и микробиологии (НИИЭМ) им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, где сотрудниками отдела сыпного тифа и других риккетсиозов отработывалась методика их накопления и очистки. Вначале работали с итало-греческим штаммом, несколько позднее – со штаммами, выделенными от больных [13]. С 1957 г. на базе Ташкентского НИИ вакцин и сывороток был развёрнут масштабный коммерческий выпуск сухого коксиеллёзного

Рисунок 1. Заболеваемость лихорадкой Ку в РФ в 1957–2019 гг. (А – 1957–1964 гг., В – 1965–1987 гг., С – 1988–2019 гг.)
Figure 1. Incidence of Q Fever in the Russian Federation – 1957–2019 (A – 1957–1964, B – from 1965 to 1987, C – 1988–2019)



диагностикума [14]. Неудивительно, что в те годы диагностическое тестирование на наличие специфических антител к возбудителю коксиеллёза набирало оборот. Одна за другой выходили статьи о выявленных случаях лихорадки Ку, в частности, в Крыму [15], Воронежской области [16], Москве [17], Дагестане [18], Татарстане [19], Ярославской области [20], Алтайском крае [21], Ставрополье [22], на Сахалине [23], в Читинской области [24], на Урале [25]. Реакция связывания комплемента (РСК), реакция агглютинации (РА) были основными диагностическими методами в те годы.

Изученные свойства возбудителя и полученные к тому времени данные о высокой встречаемости серологических маркеров к возбудителю коксиеллёза среди населения и восприимчивых животных в разных регионах страны послужили основанием для разработки профилактической вакцины. К слову сказать, экспериментальная вакцина на основе аттенуированного штамма «М-44» была предложена сотрудниками НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи Л. В. Васильевой и В. А. Яблонской уже в 1955 г. [26].

В 1970-е годы Предприятием по производству бактериальных препаратов имени Н.Ф. Гамалеи (ныне – филиал «Медгамал» НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России) был развёрнут серийный выпуск живой вакцины против лихорадки Ку наряду с коксиеллёзными диагностикумами. Позднее производство вакцины и диагностических препаратов было вынесено за пределы Москвы и переведено в Пермское научно-производственное объединение (НПО) «Биомед» (ныне – один из филиалов АО «НПО «Микроген» холдинг «Нацимбио») [27].

Производство доступных для медицинских учреждений диагностикумов и антигенов стало сокращаться уже в конце 1980-х годов, вероятно, по причине экономической нестабильности в стране. С распадом Советского Союза оборвались поставки диагностических препаратов из Ташкентского НИИ вакцин и сывороток [28], и только в ограниченных количествах осуществлялась наработка антигенов в ряде профильных учреждений (48 ЦНИИ Минобороны, НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Пермское НПО «Биомед»).

Во многом благодаря активной позиции отдельных врачей и учёных, а также функционированию специализированных научных лабораторий/отделов, лихорадку Ку продолжали регистрировать в РФ даже в годы с непростой экономической ситуацией. Следует отметить, что в 1978 г. приказом Министерства здравоохранения СССР был организован Всесоюзный Центр по риккетсиозам, который базировался в НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи. Его долгое время возглавляла академик РАН И. В. Тарасевич. Центр оказывал научно-консультативную помощь учреждениям здравоохранения, в т.ч. в вопросах верификации коксиеллёза. Согласно Положению о Центре,

он опирался на филиалы, которыми являлись научно-исследовательские институты/лаборатории, занимающиеся риккетсиозами, среди которых в нашей стране следует выделить Ленинградский НИИЭМ им. Пастера [29], Омский институт природно-очаговых инфекций. Вместе с тем, общий дефицит доступных диагностических препаратов не мог не отразиться на показателях заболеваемости коксиеллёзом в стране: впервые с 1957 г. число официально зарегистрированных случаев лихорадки Ку у людей в отдельные годы опустилось ниже 100: 1988 г. (83 случая), 1989 г. (87 случаев).

В постсоветский период лихорадку Ку продолжали диагностировать с применением серологических методов. С сокращением, а впоследствии и с полным прекращением коммерческого выпуска отечественных коксиеллёзных диагностикумов, всё чаще заболевание верифицировали в сотрудничестве с профильными научно-исследовательскими учреждениями, которые располагали столь ценным антигенным материалом. В постсоветский период заболевание регистрировали крайне неравномерно. Показатели инцидентности ниже 100 случаев в год были отмечены в 1999 г. – 27 случаев, в 2000 г. – 54, 2005 г. – 89, 2006 г. – 48, 2007 г. – 83, 2008 г. – 17, 2014 г. – 34, 2015 г. – 49, 2016 г. – 96 и в годы пандемии COVID-19 – 8 и 43 случая в 2020 г. и 2021 г. соответственно.

Согласно данным Росздравнадзора, первый коммерческий набор реагентов для иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления IgM/IgG к *C. burnetii* производства испанской фирмы «Vircell S.L» был зарегистрирован только в 2005 г. Годом позднее дистрибьюторы «Institut VirionSerion GmbH» и «NovaTek Immunodiagnostica GmbH» (Германия) зарегистрировали в РФ наборы реагентов для дифференциального выявления антител классов М и G к *C. burnetii* II фазы и антител классов А и G к *C. burnetii* I фазы. Однако данные препараты зарубежного производства, прошедшие позднее необходимые процедуры перерегистрации, в настоящее время используются для диагностики лихорадки Ку в РФ весьма ограниченно, по-видимому, из-за их высокой стоимости и проблем с поставками.

Разработками иммуноферментных наборов для диагностики лихорадки Ку и совершенствованием других серологических диагностикумов подобного назначения в РФ также занимались в профильных учреждениях, но только в 2019 г. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера официально зарегистрировал отечественный набор реагентов «ИФА-анти-Ку-G» на основе инактивированного антигена *C. burnetii* I фазы. Отметим, что сухие коксиеллёзные диагностикумы, ранее широко применяемые, согласно данным Росздравнадзора, не представлены сегодня в числе медицинских изделий *in vitro*, имеющих регистрационные удостоверения. Следовательно, для определения антител к *C. burnetii* можно в настоящее время использовать либо вышеуказанные диагностикумы

зарубежного производства, либо отечественный набор реагентов «ИФА-анти-Ку-Г». Последний набор предназначен для подтверждения инфицированности *S. burnetii*, но без дифференциальной оценки иммуноглобулинов к коксиеллам I и II фазы, а также классов М и А не представляется возможным судить о стадии инфекционного процесса.

Первые наборы реагентов в формате полимеразно-цепной реакции (ПЦР) для выявления ДНК *S. burnetii* были зарегистрированы существенно позже наборов для обнаружения специфических антител: в 2012 г. (с последующей перерегистрацией в 2019 г.) ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (набор реагентов «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-Fl») и в 2016 г. ЗАО «Синтол» (набор реагентов для выявления и идентификации нуклеиновых кислот вируса Конго-Крымской геморрагической лихорадки и возбудителя лихорадки Ку «ОМ-Скрин-ВВГЛ/Ку-РВ»). Таким образом, отсутствие на протяжении длительного времени в постсоветский период доступных диагностикумов, прежде всего, отечественного производства, можно назвать одной из причин столь серьёзных колебаний показателей инцидентности в это время.

Коксиеллёз выявлен в 50 регионах РФ. На протяжении многих лет наибольший показатель заболеваемости отмечается в Астраханской области [9], что свидетельствует не только о наличии природных и/или антропоургических очагов Q-лихорадки в регионе, но и о настороженности врачей к данному заболеванию, при этом в соседних с Астраханской областью регионах коксиеллёз практически не регистрируется. Может сложиться ложное представление об исключительной эндемичности Астраханской области по этому заболеванию.

В период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.), когда многие стационары перепрофилировались под ковидные госпитали, были существенно сокращены объёмы лабораторного тестирования для подтверждения коксиеллёза, что и объяснило низкие показатели заболеваемости в те годы. Так, в 2020 г. было установлено только 8 подтверждённых случаев лихорадки Ку у людей в Ставропольском крае. Примечательно, что Астраханская область в тот год, впервые с 1957 г., продемонстрировала нулевые показатели заболеваемости. Согласно сведениям о деятельности лабораторий санитарно-гигиенического, микробиологического и паразитологического профиля (форма 2-20), в Астраханской области в 2020 г. данных по исследованию на маркеры коксиеллёза у людей не были представлены. Однако в тот же год в 16 субъектах проводились избирательные исследования на маркеры Q-лихорадки, по-видимому, научно-исследовательского характера, и в 10 из них они были определены. Больше всего серопозитивных пациентов выявлены в Воронежской, Курганской, Ленинградской, Вологодской и Волгоградской областях. Вместе

с тем, эти сведения не вошли в статистику заболеваемости коксиеллёзом в 2020 г. В 2021 г. зарегистрировано 43 случая лихорадки Ку.

Принимая во внимание то, что антропоургические очаги коксиеллёза формируются, как правило, на территориях хозяйств по выращиванию сельскохозяйственных животных, прежде всего, мелкого рогатого скота (МРС), отсутствие регистрации лихорадки Ку у людей в регионах, славившимся своими животноводческими традициями, вызывает недоумение. Согласно данным Росстата, на конец 2021 г. Республика Дагестан располагала самым большим поголовьем МРС в РФ (4 652,4 тыс. голов), она также лидирует и по поголовью крупного рогатого скота (КРС). Также в пятерку регионов-лидеров по поголовью МРС вошли Республика Калмыкия (1 552,7 тыс. голов), Астраханская область (1 283,5 тыс. голов), Республика Тыва (1 214,1 тыс. голов) и Ставропольский край (1 195,5 тыс. голов). Между тем, Республика Дагестан (форма 2 Роспотребнадзора) на протяжении многих лет демонстрирует стабильно высокие показатели заболеваемости другим зоонозом – бруцеллёзом – в отсутствие регистрации диагноза «Коксиеллёз». При бруцеллёзе, как и при лихорадке Ку, чаще всего заражение человека происходит от инфицированного КРС и МРС. Отметим и то, что производство доступных отечественных препаратов для диагностики бруцеллёза даже в годы с непростой экономической ситуацией не носило столь печального характера, по сравнению с производством коксиеллёзных диагностикумов. По данным Росздравнадзора, для диагностики бруцеллёза в настоящее время зарегистрированы несколько наименований отечественных препаратов для РА, ИФА, ПЦР. Не вызывает сомнения, что официальные нулевые показатели заболеваемости коксиеллёзом в Республике Дагестан и соседних с Астраханской областью регионах не отражают истинной ситуации. Высокий процент серопозитивных лиц к *S. burnetii* в Республике Дагестан, выявленный ещё в середине прошлого века [18], подтверждает это. Сравнительно недавно было показано, что серопревалентность к *S. burnetii* у больных бруцеллёзом, проживающих на энзоотичной территории, отмечается у трети больных, что, вероятно, обусловлено коинфицированием [30].

Отдельно следует подчеркнуть отсутствие проведения эпизоотологического мониторинга лихорадки Ку среди животных в настоящее время. Одним из острых вопросов остаётся доступность для населения и, прежде всего, для лиц из групп высокого профессионального риска профилактической вакцины против лихорадки Ку. Разработанная на основе аттенуированного штамма «М-44», единственная одобренная Росздравнадзором вакцина в настоящее время, можно сказать, недоступна для населения. Она не представлена в центрах вакцинации и лечебных учреждениях, а также на официальном сайте АО «НПО «Микроген». Другая

перспективная разработка вакцины на основе инактивированных антигенов *S. burnetii* I фазы, прошедшая успешно доклинические и первые стадии клинических испытаний, не была доведена до коммерческого выпуска, по-видимому, из-за технологических сложностей производства, предусматривающего заражение восприимчивых животных коксииллами, выделение из их селезёнок биомассы возбудителя с последующей очисткой антигенов и инактивированием материала [31].

Лабораторное подтверждение лихорадки Ку: текущее состояние вопроса

Лабораторное подтверждение лихорадки Ку имеет колоссальное значение в связи с отсутствием патогномичных клинических признаков заболевания, большого числа субклинических форм и необходимостью раннего выявления инфекции с целью предотвращения развития грозных осложнений.

Исследования, направленные на выявление антител к *S. burnetii*, по-прежнему являются диагностическими методами первой линии. Иммуный ответ индуцирует выработку антител против коксиилл фазы II и против фазы I в связи с тем, что возбудитель имеет антигенные вариации. Антитела к коксииллам фазы II, т.е. по большей части к белковым фракциям возбудителя, как правило, обнаруживаются в кровотоке больного первыми и чаще всего выявляются через 7–15 дней после инфицирования, затем уровень их постепенно уменьшается, но они обнаруживаются долгое время. Предельные значения положительного титра антител могут варьировать в зависимости от используемого метода (РСК, РА, ИФА, реакция непрямой иммунофлуоресценции и др.) и тест-системы в соответствии с рекомендациями производителя. Вопреки широко распространённому заблуждению, выявление только антител к коксииллам II фазы в образцах сыворотки крови пациентов не является доказательством острой инфекции. При текущей (острой) инфекции нередко регистрируют и антитела к возбудителю в I фазовом состоянии, однако титры IgG к антигенам в фазе II (далее – IgG II), как правило, выше титров IgG фазы I (далее – IgG I) [32, 33].

Ниже кратко представим основные рекомендации рабочей группы по лихорадке Ку Центра по контролю за заболеваемостью CDC, США (Q Fever Working Group) [34]:

- положительная ПЦР, как правило, свидетельствует об острой стадии, но также может отмечаться при рекуррентной бактериемии в хронической стадии лихорадки Ку;
- 4-кратное изменение титров IgG II через 3–6 недель – подтверждение острой фазы;
- наличие IgM II, оптимально наряду с IgG II, свидетельствует в пользу недавнего инфицирования;
- у реконвалесцентов IgG I могут наблюдаться, но их титры ниже уровня антител к антигенам фазы II;

- хроническая лихорадка Q верифицируется в случае, если титры IgG фазы I > 1: 800 в реакции непрямой иммунофлуоресценции и/или имеется положительный результат ПЦР, при этом должен определяться один из критериев Duke – клинических признаков эндокардита или при подзрении на него и прочих осложнений.

«Голландская консенсусная группа по лихорадке Q» в отношении хронической инфекции по совокупности серологических/молекулярно-генетических и клинических критериев Duke допускает термины «доказанная», «вероятная», «возможная». Дополнительно оценивают IgA к коксииллам фазы I, высокие титры которых коррелируют с риском развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы) [35].

Один из ведущих национальных центров по риккетсиозам во Франции дополнительно рекомендует анализ IgG к кардиолипину с целью предсказания риска развития эндокардитов и других осложнений ещё в период острой инфекции. Этот центр проводит скрининг на суммарные иммуноглобулины к коксииллам II фазы, начиная с титра 1: 50. При положительном результате скрининга оценивают титры антител дифференциально по классам к антигенам коксиилл в двух фазовых состояниях. Центр во Франции рекомендует длительный серологический мониторинг пациентов (до 5 лет после перенесенного заболевания) [36]. Следовательно, чётких диагностических критериев острой и хронической стадий заболевания нет.

Несмотря на внедрение ПЦР, на практике нередко случаи получения у больных отрицательных результатов тестирования. ПЦР желательно проводить в течение первых двух недель появления клинических симптомов и до или вскоре после приёма антибиотиков. Реакция быстро становится отрицательной по мере нарастания специфических антител, снижения уровня бактериемии в крови [34]. Это приводит к необходимости комплексного применения серологических и молекулярно-генетических исследований, но такое двойное тестирование крайне редко осуществляется на практике. Кроме того, оценка динамики антител разных классов к антигенам I и II фаз *S. burnetii* (титров антител) может предоставить врачу много информации и, по совокупности с результатами ПЦР-тестирования и клиничко-эпидемиологическими данными, позволяет предположить у пациента стадию инфекционного процесса [37]. Однако такой подход экономически затратен, особенно когда возникает необходимость титрования сывороток крови и исследования парных образцов. Ведущие научные коллективы продолжают поиск маркеров острой и хронической лихорадки Q, определение которых было бы экономически доступно для медицинских организаций. Среди сравнительно новых подходов – исследование авидности антител класса G к антигенам *S. burnetii*. Авидность антител к *S. burnetii* II фазы нарастает постепенно,

и низкоavidные антитела являются показателем недавнего инфицирования [38, 39].

Заключение

Показатели заболеваемости любой нозологической формой зависят от ряда факторов. В случае лихорадки Ку при оценке инцидентности в РФ одним из таких важных факторов является доступность в регионах диагностикумов *in vitro* соответствующего назначения. В 50-х гг. прошлого века высокий интерес к лихорадке Ку дал толчок развитию диагностических методов и налаживанию коммерческого выпуска диагностикумов, поскольку для постановки диагноза в отсутствие патогномичных признаков заболевания необходимо исследование клинического материала на наличие специфических маркеров. Серологические исследования, сохранившие свою высокую значимость до настоящего времени, требовали наличия антигенов из инактивированных кокциелл, приготовление которых было сопряжено со сложностью их массового производства, предусматривающего накопление биомассы возбудителя в развивающихся куриных эмбрионах (самый распространенный метод) или посредством заражения восприимчивых животных с их последующей очисткой и инактивированием. *C. burnetii* трудно поддается культивированию на искусственных средах, что делает нерентабельным данный способ получения биомассы в условиях коммерческого производства.

Таким образом, именно доступность диагностикумов для выявления специфических антител определяло вектор изучения лихорадки Ку в нашей стране, направленный поначалу на понимание распространения заболевания и выявление очагов инфекции в разных регионах. С налаживанием производства антигенов закономерно был отмечен рост регистрации в РФ больных лихорадкой Ку, особенно в период активного изучения

«географии» инфекции (50–60-е годы прошлого столетия). Возникший впоследствии дефицит экономически доступных диагностических препаратов негативно отразился на регистрации случаев лихорадки Ку у людей почти на всей территории РФ. Приход на рынок зарубежных производителей ИФА-наборов не привёл к улучшению ситуации с диагностикой лихорадки Ку в целом по стране.

Остаётся актуальной разработка отечественных наборов реагентов не только для установления факта инфицирования, но и для понимания срока давности заражения, стадии заболевания, оценки ответа пациента на лечение и для осуществления мониторинга за уровнем антител у пациентов с ранее установленным диагнозом «Кокциеллёз». Получение высокоспецифичных рекомбинантных антигенов *C. burnetii* позволило бы снять зависимость производителей диагностических препаратов от необходимости накопления биомассы кокциелл в условиях работы II группы патогенности.

Гиподиагностика лихорадки Ку обусловлена не только сложностью клинического распознавания инфекции. Дефицит наборов реагентов для выявления специфических антител, а также предпочтительное использование только метода ПЦР для верификации диагноза у пациентов, отягощают ситуацию.

Не вызывает сомнения, что лихорадка Ку, обнаруженная в большинстве регионов нашей страны ещё в середине прошлого века, и сегодня сохраняет свой высокий эпидемический потенциал. Анализ эпидемиологической ситуации и её прогнозирования необходимо проводить с учётом оценки уровня диагностики лихорадки Ку в регионах и стране в целом. На наш взгляд, целесообразен учёт всех впервые выявленных случаев кокциеллёза в любой его стадии, учитывая тяжесть последствий заболевания. Необходимо длительное наблюдение за пациентами с установленным фактом инфицирования *C. burnetii*.

Литература

- Derrick EH. «Q» fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Reviews of Infectious Diseases*. 1983 Vol.5, N4. P.790–800.
- Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999 Vol.12, N4. P.518–553.
- Малов В. А., Горобченко А. Н., Голызян Н. М. и др. «Неясная лихорадка» 80 лет спустя. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017 T.22, №4. С.200–207.
- Eshadri R, Paulsen LT, Eisen J, et al. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003 Vol.100, N9. P.5455–5460.
- Weisburg W. G., Dobson M.E., Samuel J. E., et al. Phylogenetic diversity of the Rickettsiae. *Journal of Bacteriology*. 1989 Vol.171, N8. P.4202–4206.
- Norlander L. Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes and Infection*. 2000 Vol.2, N4. P.417–424.
- Omsland A, Cockrell DC, Howe D, et al. Host cell-free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Vol.106, N11. P.4430–4434.
- Duron O, Sidi-Boumedine K, Rousset E, et al. The importance of ticks in Q fever transmission: what has (and has not) been demonstrated? *Trends in Parasitology*. 2015 Vol.31, N11. P.536–552.
- Яковлев Э. А., Борисевич С. В., Попова А. Ю., и др. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015 №4. С.49–54.
- Шпынов С. Н., Рудаков Н. В., Зеликман С. Ю. Анализ заболеваемости лихорадкой Ку в Российской Федерации в период с 1957 по 2019 год. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021 №3. С.141–146.
- Roest HJ, Tilburg JHC, van der Hoek W, et al. The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. *Epidemiology and Infection*. 2011 Vol. 139, N1. P.1–12.
- Чумаков М. П., Беляева А. П., Шифрин И. А. и др. Изучение Q-лихорадки в СССР. Сообщение 1. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1954 №5. С.40–48.
- Кулагин С. М., Кекчеева Н. К. Изучение Q-лихорадки в СССР. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1954 №5. С.48–55.
- Доступно на: <http://bio-mind.ru/science/altmanah-3>. Ссылка активна по состоянию на 15.09.2022 г.
- Бектемиров Т. А., Тарасевич И. В., Карулин Б. Е. К характеристике эпидемического очага лихорадки Ку в Крыму. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1956 №11. С.20–26.
- Долгов Н. В. Лихорадка Ку в Воронежской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1958 №9. С.103–107.
- Федорова Н. И., Золоторьян Т. Г., Бронштейн Н. И. и др. Вспышка лихорадки Ку среди студентов Московского института мясной и молочной промышленности. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1962 №1. С.114–118.
- Федорова Н. И., Тарасевич И. В., Сергеева А. И. и др. Лихорадка Ку в Дагестане. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1957 №6. С.36–39.
- Вайштейн М. А., Газизова Г. Р., Васильева Л. Д. и др. К изучению лихорадки Ку в Татарской АССР. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1958 №9. С.110–115.
- Кулагин С. М., Федорова Н. И., Белавский Л. Я. и др. Вспышка лихорадки Ку в Ярославской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1958 №2. С.44–51.
- Зейтленко Н. А., Пилле Э. Р. Обнаружение случаев заболевания и резервуаров вируса Ку-лихорадки в Алтайском крае. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1956 №7. С.17–22.
- Зайцев А. А., Покровская Е. В. О распространении Ку-лихорадки в Ставропольском крае. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1956 №7. С.15–16.
- Нихинсон И. М., Камбур И. Б., Савченко Э. Н. Лихорадка Ку на Сахалине. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1958 №2. С.51–54.
- Бектемиров Т. А., Теленков П. Ф., Кислицина Л. И., и др. Лихорадка Ку в Читинской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1957 №6. С.25–28.
- Бурганский Б. Х., Каплинский М. Б., Выговский А. П. и др. Лихорадка Ку на Урале. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1957 №3. С.41–46.
- Васильева Л. В., Яблонская В. А. Разработка специфической профилактики лихорадки Ку. Сообщение II. Опыты вакцинации людей против лихорадки Ку. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1955 №6. С.50–54.
- Доступно на: www.medgatal.ru/about. Ссылка активна по состоянию на 15.09.2022 г.

28. Соснина О. Ю. Разработка технологии производства *Coxiella burnetii* для реакции связывания комплемента, метода флуоресцирующих антител и иммунофлуориметрического анализа. Диссертация... канд. биол. наук, г. Пермь; 1999, 149 с.
29. Доступно на: www.pasteur.org.ru/rubric/299/Regionalnyy-centr-po-nikketsiozam. Ссылка активна по состоянию на 15.09.2022 г.
30. Пономаренко Д. Т., Лозиненко О. В., Ракутина Е. Л. и др. Особенности серопреvalентности к *Coxiella burnetii* у больных бруцеллезом, проживающих на энзоотической территории. *Инфекционные болезни: новости, лечение, обучение*. 2021 №3. С.83–91.
31. Токаревич Н. К. Академик РАН И.В. Тарасевич – руководитель комбинированной инактивированной вакцины против Ку-лихорадки (коксиеллеза). *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2008 №8. С.19–24.
32. Dupont H.T, Thirion X, Raoult D. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 1994 N1. P. 189–196.
33. Kampschreur LM, Hagens J, Wielders CCH, et al. Screening for *Coxiella burnetii* seroprevalence in chronic Q fever high-risk groups reveals the magnitude of the Dutch Q fever outbreak. *Epidemiology and Infection*. 2013 Vol.141, N 4. P. 847–51.
34. Anderson A., Bijlmer H., Fournier P-E, et al. *Diagnosis and management of Q fever—United States, 2013: recommendations from CDC and the Q Fever Working group*. *MMWR Recomm. Rep.* 2013 N62. P. 1–30.
35. Wegdam-Blans M.C., Kampschreur LM, Deising C.E., et al. Dutch Q fever Consensus Group. *Chronic Q fever: review of the literature and a proposal of new diagnostic criteria*. *Journal of Infection*. 2012 Vol. 64, N3. P. 247–59.
36. Eldin C., Mélenotte C., Mediannikov O., et al. From Q fever to *Coxiella burnetii* Infection: a Paradigm Change. *Clinical Microbiology Reviews*. 2017 Vol.30, N1. P. 115–9.
37. Чеканова Т.А., Шнынов С.Н., Немалева С.Ж., и др. Диагностическая значимость определения спектра антител к *Coxiella burnetii* в I и II фазовых состояниях. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018 Т.23, №4. С.165–171.
38. Luciani L, L'Olivier C, Million M, et al. Introduction to measurement of avidity of anti-*Coxiella burnetii* IgG in diagnosis of Q fever. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019. 57:e00539-19.
39. Чеканова Т.А., Немалева С. Ж., Бабаева М. А. Перспективы изучения avidности антител класса G к *Coxiella burnetii* в клинической практике. *Национальные приоритеты России*. 2021 Т.3, №41. С.298–300.

References

1. Derrick EH «Q» fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Reviews of Infectious Diseases*. 1983;5(4):790–800. doi: 10.1093/clindis/5.4.790
2. Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):518–53 doi: 10.1128/CMR.12.4.518
3. Malov VA, Gorobchenko AN, Gulyazyan NN, et al. «Query fever»: down the line eighty years. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2017;22(4):200–7 (In Russ). doi:10.17816/EID40983
4. Eshadri R, Paulsen JT, Eisen JA, et al. Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(9):5455–60. doi: 10.1073/pnas.0931379100
5. Weisburg WG, Dobson ME, Samuel JE, et al. Phylogenetic diversity of the Rickettsiae. *Journal of Bacteriology*. 1989;171(8):4202–6. doi: 10.1128/jb.171.8.4202–4206.1989
6. Norlander L. Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes and Infection*. 2000;2(4):417–24. doi: 10.1016/s1286-4579(00)00325-7
7. Omsland A, Cockrell DC, Howe D, et al. Host cell-free growth of the Q fever bacterium *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(11):4430–4. doi:10.1073/pnas.081207410
8. Duron O, Sid-Boumedine K, Rousset E, et al. The importance of ticks in Q fever transmission: what has (and has not) been demonstrated? *Trends in Parasitology*. 2015;31(11):536–52. doi: 10.1016/j.pt.2015.06.014
9. Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V. Morbidity Rates of Q Fever in the Russian Federation and European Countries: Realities and Problems. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2015;(4):49–54 (In Russ). doi:10.21055/0370-1069-2015-4-49-54
10. Shpynov SN, Rudakov NV, Zelikman SYu. Analysis of Q fever incidence in the Russian Federation between 1957 and 2019. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021;(3):141–6 (In Russ). doi: 10.21055/0370-1069-2021-3-141-146
11. Roest HJ, Tilburg JHC, van der Hoek W, et al. The Q fever epidemic in the Netherlands: history, onset, response and reflection. *Epidemiology and Infection*. 2011;139(1):1–12. doi: 10.1017/S0950268810002268
12. Chumakov MP, Belyayeva AP, Shirin IA, et al. Studies on Q-fever in USSR. I. Data on identification of Q-fever. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1954;5:40–8. (In Russ).
13. Kulagin SM, Kekhecheva NK. Studies on Q-fever in USSR. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1954;5:48–55 (In Russ).
14. Available at: <http://bio-mind.ru/science/almanah-3>. Accessed: 15 Sep 2022. (In Russ)
15. Bektemirov TA, Tarasevich IV, Karulin BYe. Characteristics of an endemic focus of Q fever in Crimea. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1956;11:20–6. (In Russ)
16. Dolgov NV. Q fever in Voronezh region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1958;9:103–7 (In Russ).
17. Fedorova NI, Zolotor'yan TG, Bronshiteyn NI, et al. An outbreak of Q fever among students of the Moscow Technological Institute of Meat and Milk Industry. *Zh. mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1962;1:114–8 (In Russ).
18. Fedorova NI, Tarasevich IV, Sergeyeva AI, et al. Q fever in Dagestan. *Zh. mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1957;6:36–9 (In Russ).
19. Vayshteyn MA, Gazizova GR, Vasil'yeva LD, et al. Studies on Q fever in the Tartar Republic. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1958;9:110–5 (In Russ).
20. Kulagin SM, Fedorova NI, Belavskiy LYa, et al. An outbreak of Q fever in the Yaroslavl region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1958;2:44–51 (In Russ).
21. Zeytlenok NA, Pille ER. Detection of cases and reservoirs of the Q fever virus in the Altai Territory. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1956;7:17–22 (In Russ).
22. Zaytsev AA, Pokrovskaya YeV. On the spread of Q fever in the Stavropol Territory. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1956;7:15–6 (In Russ).
23. Nikhinson IM, Kambur IB, Savchenko EN. Q fever on Sakhalin. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1958;2:51–4 (In Russ).
24. Bektemirov TA, Telenkov PF, Kisilitsina LI, et al. Q fever in the Chita region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1957;6:25–8 (In Russ)
25. Burganskiy BKh, Kaplinskiy MB, Vygodskiy AP, et al. Q fever in the Urals. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1957;3:41–6 (In Russ).
26. Vasil'yeva LV, Yablonskaya VA. Development of specific prophylaxis for Q fever. *Communication I. Experiences of vaccination of people against Q fever*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 1955;6:50–4 (In Russ).
27. Available at: www.medgama.ru/about. Accessed: 15 Sep 2022 (In Russ).
28. Sosnina OYu. *Razrabotka tekhnologii proizvodstva Coxiella burnetii dlya reaktii svyazyvaniya komplementa, metoda fluoretsiruyushchikh antitel i immunofluorimetriceskogo analiza [dissertation] Perm; 1999*. Available at: <https://www.disscat.com/content/razrabotka-tekhnologii-proizvodstva-antigena-coxiella-burnetii-dlya-reaktsii-svyazyvaniya-ko>. Accessed: 15 Sep 2022 (In Russ).
29. Available at: www.pasteur.org.ru/rubric/299/Regionalnyy-centr-po-nikketsiozam. Accessed: 15 Sep 2022 (In Russ).
30. Ponomarenko DG, Logvinenko OV, Rakitina YeL, et al. Features of seroprevalence to *Coxiella burnetii* in patients with brucellosis living in an enzootic territory. *Infectious Diseases: news, opinion, training*. 2021;3:83–91 (In Russ). doi: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-83-91
31. Tokarevich NK. *Academician of the Russian Academy of Medical Sciences I.V. Tarasevich - head of the combined inactivated vaccine against Q fever (coxiellosis)*. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2008;8:19–24 (In Russ).
32. Dupont HT, Thirion X, Raoult D. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 1994;1:189–96.
33. Kampschreur LM, Hagens J, Wielders CCH, et al. Screening for *Coxiella burnetii* seroprevalence in chronic Q fever high-risk groups reveals the magnitude of the Dutch Q fever outbreak. *Epidemiology and Infection*. 2013;141(4):847–51. doi: 10.1017/S0950268812001203
34. Anderson A, Bijlmer H, Fournier P-E, et al. *Diagnosis and management of Q fever—United States, 2013: recommendations from CDC and the Q Fever Working group*. *MMWR Recomm. Rep.* 2013; 62:1–30.
35. Wegdam-Blans MC, Kampschreur LM, Deising CE, et al. Dutch Q fever Consensus Group. *Chronic Q fever: review of the literature and a proposal of new diagnostic criteria*. *Journal of Infection*. 2012; 64(3):247–59. doi:10.1016/j.jinf.2011.12.014
36. Eldin C, Mélenotte C, Mediannikov O, et al. From Q fever to *Coxiella burnetii* Infection: a Paradigm Change. *Clinical Microbiology Reviews*. 2017; 30(1):115–9. doi: 10.1128/CMR.00045-16
37. Chekanova TA, Shpynov SN, Nemal'eva SZ, et al. Diagnostic significance of antibodies spectrum to *Coxiella burnetii* in I and II phases. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2018;23(4):165–171. (In Russ) doi:10.18821/1560-9529-2018-23-4-165-171
38. Luciani L, L'Olivier C, Million M, et al. Introduction to measurement of avidity of anti-*Coxiella burnetii* IgG in diagnosis of Q fever. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57:e00539-19.
39. Chekanova TA, Nemal'eva SZ, Babayeva MA. *Perspektivy izucheniya avidnosti antitel klassa G k Coxiella burnetii v klinicheskoy praktike. Nacionalnyye priority Rossii*. 2021;3(41):298–300 (In Russ).

Об авторах

- **Татьяна Александровна Чеканова** – к. б. н., заведующая лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций, ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва. +7 (903) 195-26-42, tchekanova74@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-2532-0054>.
- **Кетеван Петремгвдливил** – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций, ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва. +7 (905) 784-43-88, ketevan0511@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8330-336X>.

Поступила: 06.09.29221. Принята к печати: 08.11.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Tatiana A. Chekanova** – Cand. Sci. (Bio), Head of Laboratory for Natural Focal Infection Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Rosпотребнадзор, Russia. +7 (903) 195-26-42, tchekanova74@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0003-2532-0054>.
- **Ketevan Petremgvdlishvili** – Junior Researcher, Laboratory for Natural Focal Infection Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Rosпотребнадзор, Russia. +7 (905) 784-43-88, ketevan0511@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-8330-336X>.

Received: 06.09.29221. Accepted: 08.11.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23>

Особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в период пандемии

И. А. Егоров¹, С. С. Смирнова*^{1,2}, В. А. Мищенко¹, И. В. Вялых¹, А. Ю. Маркарян¹, Н. Н. Жуйков¹, С. В. Романов⁴, А. В. Пономарёва⁵, И. В. Чистякова⁴, А. С. Килячина⁴, О. Ю. Аверьянов³, В. А. Смирнова³, А. Н. Большакова³, Е. В. Верник⁴, Н. А. Пушкарёва⁴, А. В. Семёнов^{1,6}

¹ ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург

² ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

³ ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург

⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», г. Екатеринбург

⁵ Управление Роспотребнадзора по Свердловской области, г. Екатеринбург

⁶ Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета имени Первого президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

Резюме

Актуальность. В условиях пандемии COVID-19 в развёрнутой широкой сети госпиталей для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2, возникают высокие риски контаминации объектов окружающей среды больниц и самих пациентов, что может приводить к развитию экзогенной внутрибольничной инфекции. **Цель.** Изучить особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды госпиталя для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2 в период пандемии COVID-19. **Материалы и методы.** Проведено исследование на наличие РНК SARS-CoV-2 и условно-патогенных микроорганизмов 343 проб с объектов внешней среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в процессе его плановой работы в течение трёх суток по 20 унифицированным точкам отбора: в зоне пребывания пациентов, общепольничной зоне, а также с наружной поверхности средств индивидуальной защиты медицинского персонала (комбинезоны, перчатки). В исследовании применяли эпидемиологические (описательно-оценочный и аналитический), молекулярно-генетические (ОТ-ПЦР, секвенирование), бактериологические и статистические методы исследования. **Результаты и их обсуждение.** В ходе исследования установлен высокий уровень вирусно-бактериальной контаминации объектов внешней среды реанимационного отделения инфекционного госпиталя для лечения больных с COVID-19 – 11,1%, в т.ч. объекты общепольничной среды – 9,3% (рабочее место врача – 16,7%); зона нахождения пациента – 13,9% (электроотсос – 27,8%, аппарат ИВЛ, манипуляционный стол – по 16,7%); наружная поверхность перчаток персонала – 21,1–38,9%; наружная поверхность защитных комбинезонов персонала – 44,4–50,0%. SARS-CoV-2, выделенный с объектов внешней среды госпиталя, относился к генетическому варианту B.1.617.1 DELTA, что соответствовало специфике эпидемиологической ситуации на момент проведения исследования. В структуре условно-патогенной микрофлоры преобладали *Enterococcus faecalis* (38,1%), *Klebsiella pneumoniae* (21,4%) и *Escherichia coli* (16,7%), которые продемонстрировали высокий уровень резистентности (к 3-м и более группам антибиотиков). **Заключение.** Первоначально основными источниками контаминации объектов больничной среды SARS-CoV-2, скорее всего, были пациенты. Дальнейшая контаминация объектов больничной среды инфекционного госпиталя вирусами и условно-патогенной микрофлорой происходила при непосредственном участии медицинского персонала. Сложившаяся ситуация требует пересмотра подходов к правилам дезинфекции, применению СИЗ и антисептической обработке рук работников инфекционного госпиталя в условиях пандемии COVID-19, а также продолжительности времени работы персонала.

Ключевые слова: инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, вирусы, SARS-CoV-2, COVID-19, бактерии, объекты окружающей среды, контаминация, инфекционный госпиталь

Конфликт интересов не заявлен.

* Для переписки: Смирнова Светлана Сергеевна, к. м. н, ведущий научный сотрудник, руководитель Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; доцент кафедры эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7(908) 917-59-86, smirnova_ss69@mail.ru. ©Егоров И. А. и др.

Для цитирования: Егоров И. А., Смирнова С. С., Мищенко В. А. и др. Особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в период пандемии. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(6): 13–23. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23>

Characteristic of Viral and Bacterial Contamination in Objects of the Infection

Hospital Environment of the Hospital for the Treatment of Patients with COVID-19 During the Pandemic Period

IA Egorov¹, SS Smirnova^{*1,2}, VA Mishchenko¹, IV Vialykh¹, AYu Markarian¹, NN Zhuikov¹, SV Romanov⁴, AV Ponomareva⁵, IV Chistiakova⁴, AS Kiliachina⁴, OYu Averianov³, VA Smirnova³, AN Bolshakova³, EV Vernik⁴, NA Pushkareva⁴, AV Semenov^{1,6}

¹Yekaterinburg Research Institute of Virus Infections «Vector», Rospotrebnadzor, Yekaterinburg, Russia

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Ural State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russia

³Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia

⁴Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russia

⁵Department of Rospotrebnadzor in the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russia

⁶Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Abstract

Relevance. Due to the COVID-19 pandemic a infectious diseases hospitals nationwide network has been deployed to treat patients infected with SARS-CoV-2. The principles of their formation with a strict division into «infectious» and «clean» zones, despite the epidemiological justification, lead to the formation of a dynamic artificially created closed ecosystem. In such an ecosystem, on the one hand, patients who undergo a wide range of invasive and aggressive therapeutic and diagnostic manipulations, and medical personnel stay for a long time, on the other hand, pathogens of a viral and bacterial nature that can adapt to hospital conditions and form resistant strains circulate. As a result, high risks of contamination of environmental objects of hospitals and patients themselves are created, which can lead to the development of exogenous nosocomial infection. **Aims.** To study the features of viral and bacterial contamination of objects in the hospital environment of the infectious diseases hospital for the treatment of patients infected with SARS-CoV-2 during the COVID-19 pandemic. **Materials and methods.** A study was conducted on 343 samples from the external environment of the infectious diseases hospital for COVID-19 patients' treatment during its planned work. Sample collection was performed during three days (Tuesday, Thursday, Sunday) at 20 unified sampling points: in the area where patients general hospital area as well as from the outer surface of personal protective equipment for medical personnel (overalls, gloves). The study used epidemiological (descriptive-evaluative and analytical), molecular genetic (SARS-CoV-2 PCR-RT, sequencing), bacteriological (isolation, cultivation and MALDI-TOF identification of bacterial cultures) methods. Statistical significance of differences was assessed by Fisher's point test (φ). Differences were considered significant at $p \leq 0.05$. Statistical data processing was carried out using the Microsoft Office 2010 application package, the online resource <https://medstatistic.ru/>, ST Statistica 10. **Results.** The study demonstrated a high level of viral and bacterial contamination of environmental objects in the intensive care unit of the infectious diseases hospital for COVID-19 patients treatment – 11.1%, incl. objects of the general hospital environment – 9.3% (doctor's workplace – 16.7%); patient location area – 13.9% (electric pump – 27.8%, mechanical ventilation, manipulation table – 16.7% each); the outer surface of personnel gloves – 21.1–38.9%; the outer surface of protective overalls for personnel – 44.4–50.0%. SARS-CoV-2 isolated from the objects of the external environment of the hospital belonged to the genetic variant B.1.617.1 DELTA, which corresponded to the epidemiological situation at sampling collection period. The opportunistic microflora structure was dominated by *Enterococcus faecalis* (38.1%), *Klebsiella pneumoniae* (21.4%) and *Escherichia coli* (16.7%), which demonstrated a high level of resistance (to 3 or more groups of antibiotics). **Conclusion.** Initially, the main sources of the infectious diseases hospital environmental objects contamination with SARS-CoV-2 are most likely patients. Further contamination of the infectious diseases hospital environmental objects with viruses and opportunistic microflora occurs with the medical personnel direct participation. The current situation requires a review of approaches to the rules for disinfection, the PPE use and employees hands antiseptic treatment in infectious diseases hospital during the COVID-19 pandemic, as well as the length of staff work period length.

Keywords: healthcare-associated infections, viruses, SARS-CoV-2, COVID-19, bacteria, environmental objects, contamination, infectious diseases hospital

No conflict of interest to declare.

For citation: Egorov IA, Smirnova SS, Mishchenko VA et al. Characteristic of viral and bacterial contamination in objects of the infection hospital environment of the hospital for the treatment of patients with COVID-19 during the pandemic period. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 13–23 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23>

* For correspondence: Smirnova Svetlana S., Cand. Sci. (Med.), leading researcher, head of the Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections of Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Yekaterinburg; associate Professor of the Department of epidemiology, social hygiene and organization of sanitary-epidemiological service of Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russia. +7(908) 917-59-86, smirnova_ss69@mail.ru. ©Egorov IA, et al.

Введение

Пандемия COVID-19 стала серьёзным испытанием для современной системы здравоохранения. Высокий эпидемический потенциал вируса SARS-CoV-2 показал необходимость в развёртывании специально оборудованных структурных подразделений медицинских организаций (МО) – инфекционных госпиталей для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2 [1].

Принципы формирования инфекционных госпиталей закреплены в законодательных актах Российской Федерации и основаны на жёстком разделении на «красную» (грязную) и «зелёную» (чистую) зоны, что эпидемиологически оправданно с точки зрения внутрибольничного распространения SARS-CoV-2, в первую очередь среди медицинского персонала [2]. Однако в инфекционных госпиталях возникают условия для формирования динамической, искусственно созданной закрытой экосистемы. В этой экосистеме находятся как длительно пребывающие пациенты, которым проводят широкий спектр инвазивных и агрессивных лечебно-диагностических манипуляций, так и медицинский персонал. Использование сложного комплекта средств индивидуальной защиты (СИЗ) персонала, применение нескольких пар медицинских перчаток, длительная рабочая смена приводят к нарушению отработанных технологий профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Сложившиеся условия ведут к активной циркуляции возбудителей ИСМП вирусной и бактериальной природы, с формированием у них адаптации к больничным условиям и селекции резистентных штаммов возбудителей. Это усугубляет эпидемиологическую ситуацию в инфекционных госпиталях, ведёт к высоким рискам контаминации объектов окружающей среды больниц и самих пациентов, с последующим развитием экзогенной внутрибольничной инфекции [3].

В условиях пандемии COVID-19 исследования по обнаружению вируса SARS-CoV-2 на различных объектах больничной среды проводили в различных странах мира: Китае (Songjie Wu, et al., 2020), Южной Корее (Byung-Han Ryu, et al., 2020), США (Coil D. A., et al., 2021), Англии (Moore G., et al., 2021) [4–6]. Не меньший интерес у исследователей вызывает изучение свойств циркулирующих агентов бактериальной природы, в том числе их антибиотикорезистентность (Shemse Sebre, et al., 2020; Laila Chaoui, et al., 2019; Entsar H. Ahmed, et al., 2019; F Cyr Doscoph Afle, et al., 2019), однако эти исследования осуществлены в стационарах медицинских организаций, оказывающих плановую медицинскую помощь населению [7–10].

Исследование, проведённое в Англии (Moore G., et al., 2021), совмещало в себе изучение контаминации объектов больничной среды ПНК SARS-CoV-2 и бактериями, однако в ходе него не проводили секвенирование и родо-видовую характеристику выделенных бактерий [6].

В обстоятельствах продолжающейся пандемии COVID-19 создается необходимость в совместной оценке вирусной и бактериальной контаминации объектов окружающей среды «красной зоны» инфекционных госпиталей для лечения больных с COVID-19 с целью разработки целенаправленных профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на снижение риска развития ИСМП у пациентов и персонала инфекционных госпиталей в период пандемии COVID-19.

Цель исследования – изучить особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2, в период пандемии COVID-19.

Материалы и методы

Исследование проведено в октябре–ноябре 2021 г. на базе одного из учреждений здравоохранения Свердловской области, где был развёрнут инфекционный госпиталь для лечения больных с COVID-19.

Исследованы 343 пробы смывов для выявления ПНК SARS-CoV-2 и выделения условно-патогенных микроорганизмов с объектов внешней среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в процессе его плановой работы. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

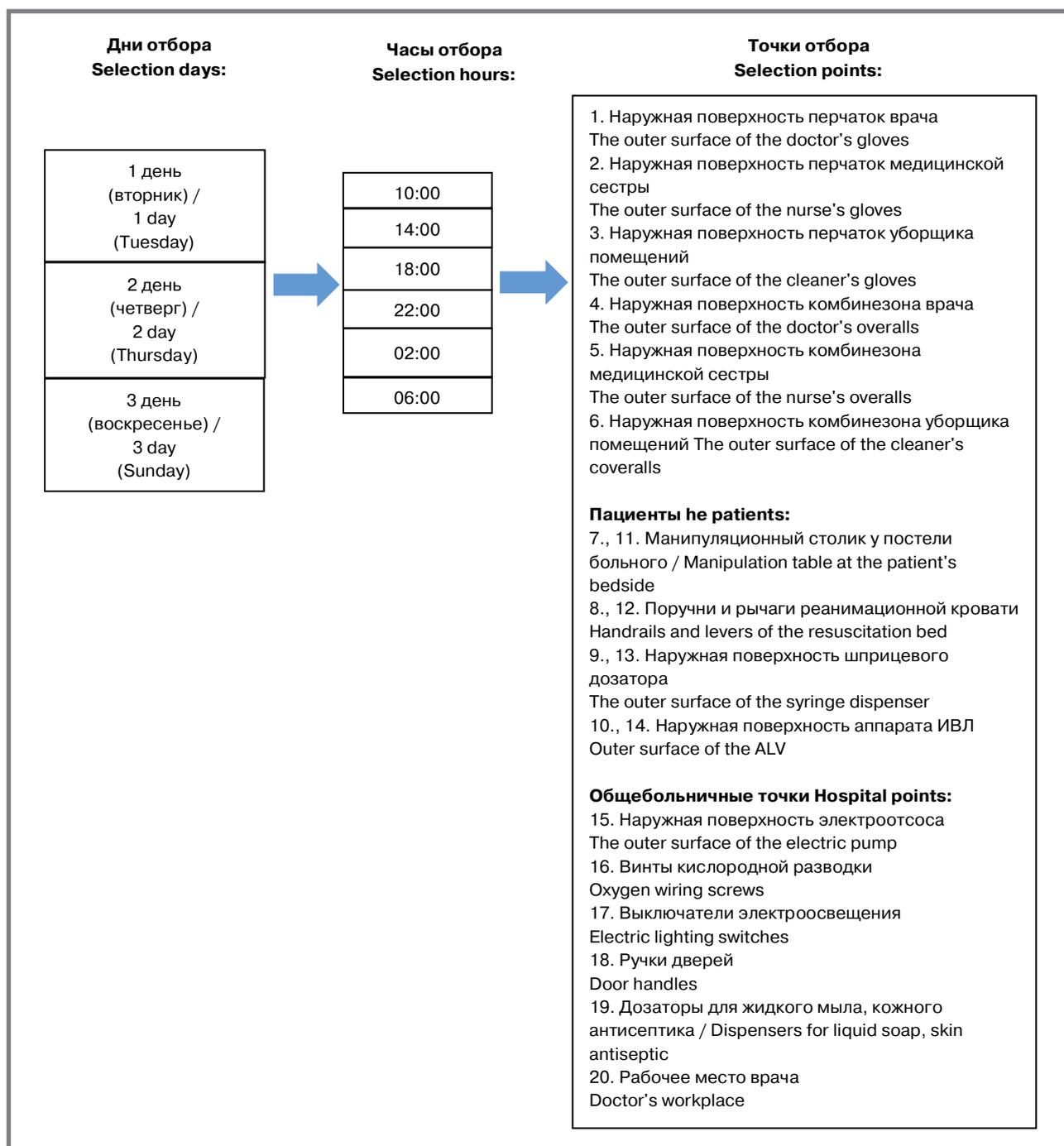
Смывы брали одновременно двумя стерильными тампонами с каждой унифицированной точки. После процедуры взятия смыва для обнаружения ПНК SARS-CoV-2 тампон погружали в стерильные одноразовые пробирки, наполненные 2 мл транспортной среды для вирусов (ООО «Полигем»), для определения условно-патогенных бактерий – в стерильные стеклянные пробирки с пептонной водой. В динамике с каждой из 20 унифицированных точек было взято 17–18 проб смывов (см. рис. 1).

Хранение, подготовку проб к транспортированию и транспортировку осуществляли в соответствии с МР 3.1.0196-20 «Профилактика инфекционных болезней».

В исследовании применяли эпидемиологические (описательно-оценочный и аналитический), молекулярно-генетические (ОТ-ПЦР, секвенирование), бактериологические и статистические методы исследований. При анализе полученных данных применяли общепринятые статистические приемы. Данные представлены в виде абсолютных и относительных величин (%).

ПНК SARS-CoV-2 в образцах выявляли в соответствии с МР 3.1.0196-20 «Выявление возбудителя COVID-19 в образцах внешней среды» и МУК 4.2.2942-11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях» и инструкцией к проведению ПЦР в реальном времени с применением тест-системы АмплиСенс® Cov-Bat-FL, для выделения нуклеиновых кислот из исследуемых проб использовали

Рисунок 1. Дизайн исследования
Figure 1. Research design



набор «РИБО-преп», для проведения обратной транскрипции применяли набор «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

Для секвенирования SARS-CoV-2 проводили амплификацию локусов гена, кодирующего S-белок, с помощью олигонуклеотидных праймеров из Протокола Университета Женевы (Geneva, December 26th, 2020, Rue Gabrielle-Perret-Gentil 4, 1211 Geneva 14, Switzerland; MP 3.1.0272-22.3.1. «Профилактика инфекционных болезней. Молекулярно-генетический мониторинг штаммов возбудителя новой коронавирусной инфекции»)

и определяли нуклеотидную последовательность по Сэнгеру.

Праймеры для проведения ПЦР:

1. CACV_55_F: atggaaccattacagatgctgtag и R47: catatgagttgtgacatgttcag, фланкирующие фрагмент гена S-белка размером 1068 п.н.
2. F44: tctctcttagtaaaggtagactt и CACV_51_R: gagggagatcacgcactaaa, фланкируют фрагмент гена S-белка размером 570 п.н.

Реакцию амплификации осуществляли с применением набора ScreenMix-HS (ЗАО «Евроген»,

Россия). В реакционную смесь набора ScreenMix-NS объемом 25 мкл вносили 10 мкл выделенной кДНК с добавлением 1 пМ прямого и обратного праймеров. Амплификацию осуществляли на амплификаторе MyiQ™ («Bio-Rad», США) по программе 95 °C – 5 мин; 35 циклов 95 °C – 20 с, 55 °C – 20 с, 72 °C – 40 с; 72 °C – 2 мин.

Продукты амплификации очищали в геле с использованием Cleanup Standard (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для получения меченых ампликонов использовали набор BigDye® Terminator v3.1 Cycle (Thermo FS, США), как указано в инструкции к препарату. Секвенирование полученных фрагментов ДНК выполняли на генетическом анализаторе Honor 1616 HID (Nanjing Superyears Gene Technology Co., Ltd., Китай), для выравнивания и анализа полученных последовательностей применяли программу MEGA 7.0.

Для дифференциации геновариантов ВЭП (категория «высокий эпидемиологический потенциал») вируса SARS-CoV-2 определяли наличие мутаций S-гена. Нумерация нуклеотидных остатков приведена относительно нуклеотидной последовательности референс-штамма Wuhan-Hu-1 (GenBank: NC_045512.2).

Фенотипические свойства циркулирующей микрофлоры устанавливали бактериологическим методом с подтверждением чистоты культуры, постановкой биохимических рядов. Оценку антибиотикорезистентности выделенных штаммов выполняли с помощью автоматического бактериологического анализатора VITEK® 2 Compact (bioMérieux SA, Франция) и классическим полуколичественным диско-диффузионным методом.

Статистическую значимость различий оценивали по точечному критерию Фишера (ϕ). Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office 2010, онлайн-ресурса <https://medstatistic.ru/>, ПС Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Инфекционный госпиталь для лечения больных COVID-19 находился в отдельно стоящем корпусе на территории многопрофильной медицинской организации. Медицинская помощь оказывалась пациентам (беременным женщинам и детям), инфицированным SARS-CoV-2 со средне-тяжелым и тяжелым клиническим течением заболевания.

PHK SARS-CoV-2 была выявлена в 38 пробах с объектов больничной среды реанимационного отделения. Общий уровень контаминации составил 11,1% (38 проб), при этом доля находок, содержащих PHK SARS-CoV-2, в течение недели была неравномерна и в динамике к третьему дню исследования снизилась в 6,7 раз (с 17,5% в первый день – вторник до 2,6% в третий день – воскресенье, $\phi_{\text{ЭМП}} = 4,085$, $p < 0,01$). Уровень контаминации

условно-патогенной микрофлорой (УПМ) имел схожую тенденцию со снижением доли положительных проб к концу недели в 1,8 раза (с 14,0% в первый день до 7,8% в третий, $\phi_{\text{ЭМП}} = 1,520$, $p > 0,05$).

Суточная вариабельность вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды реанимационного отделения имела временные различия. PHK SARS-CoV-2 обнаруживали преимущественно в пробах, отобранных в ночное (02:00) – 16,7%, вечернее (18:00) – 15,0%, дневное (14:00) время – 13,3%, в то время как представители УПМ преимущественно были выделены из проб, отобранных в вечерние (18:00 – 15,0%, 22:00 – 12,7%) и утренние (06:00 – 13,0%, 10:00 – 11,7%) часы.

При ранжировании объектов больничной среды установлено, что наиболее контаминированными точками отбора в зоне нахождения пациента были: наружная поверхность электроотсоса (27,8%), наружная поверхность аппарата искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ) и манипуляционный стол у постели больного (по 16,7%). В меньшей степени были контаминированы наружная поверхность шприцевого дозатора (11,1%), поручни и рычаги реанимационной кровати (8,3%), винты кислородной разводки (5,6%). Общий уровень контаминации зоны пребывания пациента составил 13,9%.

Уровень контаминации объектов общебольничной среды был несколько ниже и составил 9,3%. Отмечено, что контаминация ручек дверей, дозаторов для жидкого мыла и кожного антисептика составила по 11,1%, выключателей электроосвещения – 5,9%. Наиболее контаминированной точкой общебольничной зоны оказалось рабочее место врача (стол, клавиатура компьютера, мышь), где микроорганизмы были обнаружены в 16,7% проб.

В ходе исследования установлено, что наиболее значительный уровень вирусно-бактериальной контаминации был выявлен при исследовании комплектов средств индивидуальной защиты (СИЗ) персонала. Так, были контаминированы 50,0% наружных поверхностей комбинезонов врачей и медицинских сестёр и 44,4% наружных поверхностей комбинезонов уборщиков служебных помещений. Контаминация верхней пары перчаток врачей выявлена в 38,9% случаев, медицинских сестёр – 22,2%, у уборщиков помещений – 21,1% (табл. 1).

В процессе исследования было выделено 42 штамма бактерий, главным образом: *Enterococcus faecalis* (16 штаммов, 38,1%), *Klebsiella pneumoniae* (9 штаммов, 21,4%), *Escherichia coli* (7 штаммов, 16,7%). С меньшей частотой выделяли *Enterococcus faecium* (3 штамма, 7,1%), *Staphylococcus aureus* (3 штамма, 7,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (2 штамма, 4,8%) и *Pantoea agglomerans* (2 штамма, 4,8%).

Структура УПМ, выделенных с объектов больничной среды реанимационного отделения, имела суточную вариабельность. Так, представителей

Таблица 1. Частота вирусно-бактериальной контаминации различных объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных с COVID-19

Table 1. The frequency of viral-bacterial contamination of various objects of the hospital environment of the infectious diseases hospital for the treatment of patients with COVID-19

Точка отбора смывов Flush sampling point	Всего проб Total samples	Включая положительные including positive		Из них Of these			
		абс. чис. absolute number	доля, % percent, %	SARS-CoV-2		УПМ Opportunistic microflora	
				абс. чис. absolute number	доля, % percent, %	абс. чис. absolute number	доля, % percent, %
СИЗ персонала медицинской организации Individual protection means a medical organization personnel							
Наружная поверхность комбинезона врача The outer surface of the doctor's overalls	18	9	50,0	0	0,0	9	100,0
Наружная поверхность комбинезона медицинской сестры The outer surface of the nurse's overalls	19	9	50,0	4	44,4	6	66,7
Наружная поверхность комбинезона уборщика помещений The outer surface of the cleaner's coveralls	9	4	44,4	2	50,0	4	100,0
Наружная поверхность верхней пары перчаток врача The outer surface of the doctor's gloves	18	7	38,9	2	28,6	7	100,0
Наружная поверхность верхней пары перчаток медицинской сестры The outer surface of the nurse's gloves	19	4	21,1	1	25,0	3	75,0
Наружная поверхность верхней пары перчаток уборщика помещений The outer surface of the cleaner's gloves	9	2	22,2	2	100,0	0	0,0
Объекты больничной среды Hospital environment facility							
Наружная поверхность электроотсоса The outer surface of the electric pump	18	5	27,8	4	80,0	2	40,0
Наружная поверхность аппарата ИВЛ Outer surface of the ALV	36	6	16,7	6	100,0	0	0,0
Манипуляционный стол у постели больного Manipulation table at the patient's bedside	36	6	16,7	3	50,0	4	66,7
Рабочее место врача Doctor's workplace	18	3	16,7	3	100,0	1	33,3
Наружная поверхность шприцевого дозатора The outer surface of the syringe dispenser	36	4	11,1	4	100,0	0	0,0
Ручки дверей Door handles	18	2	11,1	2	100,0	0	0,0
Дозаторы для жидкого мыла и кожного антисептика Dispensers for liquid soap and skin antiseptic	18	2	11,1	2	100,0	0	0,0
Поручни и рычаги реанимационной кровати Handrails and levers of the resuscitation bed	36	3	8,3	1	33,3	2	66,7

Таблица 1. Продолжение
Table 1.

Точка отбора смывов Flush sampling point	Всего проб Total samples	Включая положительные including positive		Из них Of these			
		абс. чис. absolute number	доля, % percent, %	SARS-CoV-2		УПМ Opportunistic microflora	
				абс. чис. absolute number	доля, % percent, %	абс. чис. absolute number	доля, % percent, %
Выключатели электроосвещения Electric lighting switches	17	1	5,9	1	100,0	0	0,0
Винты кислородной разводки Oxygen wiring screws	18	1	5,6	1	100,0	0	0,0
Всего Total	343	68	19,8	38	55,9	38	55,9

граммотрицательной микрофлоры (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) преимущественно выделяли в утренние (10:00), дневные (14:00) и вечерние (18:00) часы, в том время как представителей грамположительной микрофлоры (*E. faecalis*, *E. faecium*, *S. aureus*) – в ночные (22:00, 02:00) и утренние (06:00).

По результатам оценки профиля антибиотикорезистентности к группам антимикробных препаратов (АМП) штаммов, выделенных с различных объектов внешней среды реанимационного отделения, наибольшая устойчивость отмечалась к пенициллинам (40,5%), фторхинолонам и тетрациклинам (по 33,3%) и цефалоспорином (26,2%).

Среди устойчивых штаммов *E. faecalis* наибольшая резистентность была отмечена к макролидам (100,0%) и тетрациклинам (75,0%). К фторхинолонам проявляли устойчивость 18,8% штаммов *E. faecalis*.

Все штаммы *E. faecium* были устойчивы к макролидам (100,0%), треть была резистентна к нитрофурантоину (33,3%).

Треть штаммов *S. aureus* была устойчива к пенициллинам и макролидам (по 33,3%). Один выделенный штамм *S. aureus* имел фенотип MLS_B , обуславливающий перекрёстную устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограминам В.

Все выделенные штаммы *K. pneumoniae* (100%) были устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином, макролидам и сульфаметоксазол/триметоприму, в 66,7% – к фторхинолонам, аминогликозидам, нитрофурантоину, в 22,2% – к карбапенемам, тетрациклинам, фосфомицину. Бета-лактамазу расширенного спектра действия (ESBL) продуцировали 7 (77,8%) из 9 выделенных штаммов *K. pneumoniae*.

Все выделенные штаммы *E. coli* проявили резистентность к пенициллинам (100,0%), 71,4% – к фторхинолонам. В меньшей степени устойчивость *E. coli* проявлялась к цефалоспорином – 28,6%, аминогликозидам и фосфомицину – по 14,3%. ESBL продуцировали 2 (28,6%) из 7 выделенных штаммов *E. coli*.

Штаммы *P. aeruginosa* были резистентны к фосфомицину (100,0%) и пенициллинам (50,0%), штаммы *P. agglomerans* – к тетрациклинам (100,0%) и карбапенемам (50,0%).

По результатам секвенирования РНК SARS-CoV-2, в пробах, полученных с наружной поверхности электроотсоса и наружной поверхности комбинезона медицинской сестры, был выявлен генетический вариант ВЭП линии Delta, В.1.617.1 (Индийский 2») по наличию замены Т19R (Т (тирозин) на R (аргинин) – 19 позиция). Полученные изоляты были депонированы в базу данных GenBank NCBI под номерами: OM037137 (изолят SARS-CoV-2/human/RUS/44-N1-95_EKB_26-10-2021/2021) и OL663846 (изолят SARS-CoV-2/human/RUS/46-N1-105_EKB_26-10-2021/2021).

В ходе исследования было выявлено 11 вариантов вирусно-бактериальных ассоциаций, спектр сочетания которых был крайне разнообразен: SARS-CoV-2 + *E. faecalis* (27,3%), SARS-CoV-2 + *K. pneumoniae* (18,2%), SARS-CoV-2 + *E. coli* (9,1%), SARS-CoV-2 + *P. aeruginosa* (9,1%), *P. agglomerans* + *E. faecalis* (9,1%), *E. coli* + *E. faecalis* (9,1%), *K. pneumoniae* + *E. faecalis* (9,1%), *K. pneumoniae* + *E. coli* (9,1%). В качестве ассоцианта в большинстве случаев (63,6%) выступал SARS-CoV-2, среди бактериальной микрофлоры лидировали *E. faecalis* (54,5%) и *K. pneumoniae* (36,4%) (табл. 2).

Работники медицинских организаций, чья профессиональная деятельность тесно связана с воздействием различных биологических факторов, в силу интенсивности и массовости контактов с инфицированными пациентами, выделяющими SARS-CoV-2, являются самой незащищенной и активно вовлекаемой в эпидемический процесс COVID-19 категорией населения [1,11,13–15].

Риск инфицирования работников медицинских организаций, контактирующих с пациентами, выделяющими SARS-CoV-2, в 11,6 раза превышает общепопуляционный [16]. По результатам исследования, проведённого среди работников медицинских организаций г. Екатеринбурга

Таблица 2. Ассоциации микроорганизмов, выделенные с различных объектов внешней среды реанимационного отделения инфекционного госпиталя для лечения больных с COVID-19

Table 2. Associations of microorganisms isolated from various environmental objects of the intensive care unit of the infectious diseases hospital for the treatment of patients with COVID-19

Вариант ассоциации / Association Option	Точка отбора смывов Flush sampling point	Частота встречаемости ассоциации Association frequency	
		абс. чис. absolute number	доля, % percent, %
SARS-CoV-2 + <i>Enterococcus faecalis</i>	Наружная поверхность перчаток врача The outer surface of the doctor's gloves	3	27,3
	Наружная поверхность комбинезона медицинской сестры The outer surface of the nurse's overalls		
	Наружная поверхность комбинезона уборщика помещений The outer surface of the cleaner's coveralls		
SARS-CoV-2 + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Наружная поверхность комбинезона уборщика помещений The outer surface of the cleaner's coveralls	2	18,2
	Рабочее место врача / Doctor's workplace		
Pantoea agglomerans + <i>Enterococcus faecalis</i>	Наружная поверхность комбинезона врача The outer surface of the doctor's overalls	1	9,1
<i>Escherichia coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>		1	9,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>		1	9,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Escherichia coli</i>	Наружная поверхность комбинезона медицинской сестры The outer surface of the nurse's overalls	1	9,1
SARS-CoV-2 + <i>Escherichia coli</i>	Манипуляционный стол у постели больного / Manipulation table at the patient's bedside	1	9,1
SARS-CoV-2 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Наружная поверхность электроотсоса The outer surface of the electric pump	1	9,1
Всего ассоциаций Total associations		11	100,0

и направленного на оценку рисков инфицирования SARS-CoV-2 в условиях работы в медицинских организациях различного профиля установлено, что работа в условиях инфекционного госпиталя в 1,8 раза увеличивала риск инфицирования SARS-CoV-2 (RR – 1,78, [95%ДИ 1,65–1,93]). Основными факторами риска инфицирования работников инфекционного госпиталя явились: оказание медицинской помощи пациенту с COVID-19; участие в аэрозоль-генерирующих процедурах; прямой

контакт с окружающей средой, в которой находился больной COVID-19; выполнение функций уборщика помещений; использование СИЗ с неполной защитой органов зрения; отсутствие регулярной замены СИЗ; продолжительность рабочей смены [11].

Одним из эпидемиологически значимых факторов передачи инфекции в условиях стационара являются руки персонала. Их доля в структуре всех факторов составляет более 50,0% [12]. В нашем исследовании получены данные, подтверждающие

роль рук медицинского персонала в передаче внутрибольничной инфекции. Так, уровень контаминации наружной поверхности перчаток у врачей составил 38,9%, у медицинских сестёр – 22,2%, у уборщиков служебных помещений – 21,1%.

В условиях пандемии COVID-19 работа сотрудников реанимационного отделения инфекционного госпиталя сопряжена со значительной эмоциональной и физической нагрузкой, необходимостью длительного нахождения в «грязной» зоне в сочетании с дефицитом СИЗ [17]. Оказание медицинской помощи различным пациентам с проведением им широкого спектра процедур, в том числе связанных с генерацией аэрозоля, приводит к контаминации СИЗ. В нашем исследовании контаминация наружной поверхности комбинезонов работников медицинских организаций различных категорий достигала половины от числа отобранных проб и составила: по 50,0% у врачей и медицинских сестёр и 44,4% у уборщика служебных помещений.

На контаминированной поверхности СИЗ могут сохраняться возбудители инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы. Последовательное оказание медицинской помощи нескольким пациентам, перемещение внутри отделения наряду с длительным использованием комплекта СИЗ способствует распространению микроорганизмов в замкнутой экосистеме реанимационного отделения, как среди медицинских работников, так и среди пациентов [18,19]. Отмечено, что все точки отбора смывов, которые были включены в исследование, были контаминированы в той или иной степени (от 5,6% – винты кислородной разводки до 27,8% – наружная поверхность электроотсоса), что подчеркивает роль контаминации защитных перчаток и комбинезонов персонала как фактора передачи возбудителей инфекционных заболеваний между помещениями реанимационного отделения.

Наиболее контаминированной зоной в реанимационном отделении было рабочее место врача (16,7%). Контаминация зоны пребывания пациента составила 13,9%, общебольничной зоны – 9,3%.

Искусственно созданная замкнутая экосистема инфекционного госпиталя для лечения больных с COVID-19 создаёт условия для активной циркуляции условно-патогенных микроорганизмов и селекции штаммов, устойчивых к антимикробным препаратам. В нашем исследовании в структуре выделенных штаммов микроорганизмов преобладали *E. faecalis* (16 штаммов, 38,1%), *K. pneumoniae* (9 штаммов, 21,4%), *E. coli* (7 штаммов, 16,7%).

Преимущественное выделение в первой половине дня с объектов больничной среды таких представителей грамотрицательной флоры, как *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, может быть предопределено их этиологической ролью в развитии внутрибольничной пневмонии у пациентов реанимационного профиля и проведением санации трахеобронхиального дерева, относящейся

к аэрозоль-генерирующей процедуре именно в утренние часы.

Выделенный с поверхностей SARS-CoV-2 относился к геноварианту B.1.617.1 DELTA, который имел глобальное распространение в период проведения исследования (октябрь–ноябрь 2021 г.), что соответствовало специфике эпидемиологической ситуации на момент проведения исследования.

Наибольшее число ассоциаций вирусов и бактерий было выделено с наружной поверхности комбинезонов персонала инфекционного госпиталя – 63,6%, при общем уровне их контаминации в 47,8% (24,0% – РНК SARS-CoV-2, 76,0% – УПМ).

Таким образом, в ходе исследования установлен высокий уровень вирусно-бактериальной контаминации объектов внешней среды реанимационного отделения инфекционного госпиталя для лечения больных с COVID-19 – 11,1%, в т.ч. объекты общебольничной среды – 9,3% (рабочее место врача – 16,7%); зона нахождения пациента – 13,9% (электроотсос – 27,8%, ИВЛ, манипуляционный стол – по 16,7%); наружная поверхность перчаток персонала – 21,1–38,9%; наружная поверхность СИЗ персонала – 44,4–50,0%.

В структуре условно-патогенной микрофлоры преобладали *E. faecalis* (38,1%), *K. pneumoniae* (21,4%) и *E. coli* (16,7%), которые продемонстрировали высокий уровень резистентности (к трём и более группам антибиотиков).

Заключение

Полученные результаты нашего исследования подчёркивают значимость специальной одежды медицинского персонала (комбинезоны, перчатки) в эпидемиологической цепочке передачи возбудителей внутрибольничных инфекций. Ситуация усугубляется отсутствием разработанных методик обработки комбинезонов и перчаток в условиях длительного пребывания персонала в «грязной» зоне. Сложившиеся на данный момент практики применения СИЗ в инфекционных госпиталях приводят к активной циркуляции возбудителей ИСМП, формированию у них адаптации к больничным условиям и селекции резистентных штаммов. Всё это создаёт высокие риски экзогенного инфицирования как для пациентов госпиталей, так и для персонала.

Первоначально основными источниками контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя SARS-CoV-2, скорее всего, были пациенты инфекционного госпиталя. Дальнейшая контаминация объектов больничной среды инфекционного госпиталя вирусами и условно-патогенной микрофлорой происходит при непосредственном участии медицинского персонала. Сложившаяся ситуация требует пересмотра подходов к правилам дезинфекции, применению СИЗ и антисептической обработки рук работников инфекционного госпиталя в условиях пандемии COVID-19.

Источник финансирования

Научно-исследовательская работа «Изучение эпидемиологического процесса и профилактика вирусных

инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (на примере ветряной оспы, норо- и ротавирусной инфекции и др.)» УДК 616.9; 614.4, Рег. № НИОКТР 121040500099-5.

Литература

1. Кутырев В. В., Попова А. Ю., Смоленский В. Ю. и др. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: особенности течения эпидемиологического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемиологическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020, № 2. С. 6–12.
2. МР 3.1.0229-21. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Рекомендации по организации противоэпидемиологических мероприятий в медицинских организациях, осуществляющих оказание медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) (подозрением на заболевание) в стационарных условиях. Доступно на: <https://docs.cntd.ru/document/573382386> (дата обращения: 03.02.2022).
3. Брусина Е. Б., Зуева Л. П., Ковалишина О. В. и др. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: современная доктрина профилактики Часть 2. Основные положения // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018 Т. 17, № 6(103). С. 4–10.
4. Wu S., Wang Y., Jin X., et al. Environmental contamination by SARS-CoV-2 in a designated hospital for coronavirus disease 2019 // *Am. J. Infect. Control. Elsevier Inc.* 2020 Vol. 48, N8. P. 910–914.
5. Coil D., Albertson T., Banerjee S., et al. SARS-CoV-2 detection and genomic sequencing from hospital surface samples collected at UC Davis // *PLoS One*. 2021 Vol. 16, N6. P. e0253578.
6. Moore G., Rickard H., Stevenson D., et al. Detection of SARS-CoV-2 within the healthcare environment: a multi-centre study conducted during the first wave of the COVID-19 outbreak in England. *J. Hosp. Infect.* 2021 Vol. 108, P. 189–196
7. Sebre S., Abegaz W.E., Seman A., et al. Bacterial Profiles and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Isolates from Inanimate Hospital Environments at Tikur Anbessa Specialized Teaching Hospital, Addis Ababa, Ethiopia // *Infect. Drug Resist.* 2020 Vol. 13, P. 4439–4448.
8. Chaoui L., Mhand R., Mellouki F., et al. Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria // *Int J Microbiol.* 2019 Vol. 2019, P. 3236526.
9. Entsar H. Ahmed, Hebat-Allah M. Hassan, Nahla M. El-Sherbiny, et al. Bacteriological Monitoring of Inanimate Surfaces and Equipment in Some Referral Hospitals in Assiut City, Egypt. *Int. J. Microbiol.* 2019 Vol. 2019, P. 5907507
10. Afle F., Agbankpe A., Johnson R., et al. Healthcare-associated infections: bacteriological characterization of the hospital surfaces in the University Hospital of Abomey-Calavi/so-ava in South Benin (West Africa). *BMC Infect. Dis.* 2019 Vol. 19, P. 28.
11. Егоров И. А., Смирнова С. С., Вяткина Л. Г. и др. Сравнительная характеристика рисков инфицирования SARS-CoV-2 работников медицинских организаций различного профиля в период пандемии. *Проблемы гигиенической безопасности и профилактики нарушений трудоспособности у работающих: Материалы Всероссийской научно-практической интернет-конференции, Нижний Новгород, 24–25 ноября 2021 года. И. А. Умнягина, ред. Нижний Новгород: МедиаЛ, 2021. С. 325–333.*
12. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Раздел XLIV. Профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. [Электронный ресурс]. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573660140> (дата обращения: 03.02.2022).
13. Gomez-Ochoa S., Franco O., Rojas L., et al. COVID-19 in Health-Care Workers: A Living Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes. // *Am J Epidemiol.* 2021 Vol. 190, N1. P. 161–175.
14. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В. и др. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020 Т. 19, № 2. С. 4–12.
15. Celebi G., Piskin N., Celik Beklevic A., et al. Specific risk factors for SARS-CoV-2 transmission among health care workers in a university hospital // *Am J Infect Control.* 2020 Vol. 48, N10. P. 1225–1230.
16. Nguyen L., Drew D., Joshi A., et al Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study // *Lancet Public Heal.* 2020 Vol. 5, N9. P. e475–e483.
17. COVID-19: гигиена и безопасность труда медицинских работников, World Health Organization (WHO), International Labour Organization, (ILO). (Feb. 22, 2021).
18. Рациональное использование средств индивидуальной защиты при COVID-19 и соображения применительно к ситуации их острой нехватки, World Health Organization (WHO). (Apr. 06, 2020).
19. Casanova L., Alfano-Sobsey E., Rutala W., et al. Virus transfer from personal protective equipment to healthcare employees' skin and clothing. // *Emerg Infect Dis.* 2008 Vol. 14, N8. P. 1291–1293.

References

1. Kutyrev VV, Popova AIU, Smolenskii VIU, et al. Epidemiological peculiarities of new coronavirus infection (COVID-2019). Communication 2: peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. *Problems of particularly dangerous infections*. 2020;2:6–12. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12
2. Prevention of infectious diseases. Recommendations for the organization of anti-epidemic measures in medical organizations providing medical care to patients with a new coronavirus infection (COVID-19) (suspected disease) in a hospital (MP 3.1.0229-21. 3.1.). Available at: – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573382386> (date of the application: 03.02.2022).
3. Brusina EB, Zueva LP, Kovalishina OV, et al. Healthcare-associated infections: modern doctrine of prophylaxis. Part II. Basic concept. *Epidemiology and vaccinal prevention*. 2018;17(6):4–10. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-6-4-10.
4. Wu S, Wang Y, Jin X, et al. Environmental contamination by SARS-CoV-2 in a designated hospital for coronavirus disease 2019. *Am. J. Infect. Control. Elsevier Inc.* 2020;48(8):910–914. doi: 10.1016/j.ajic.2020.05.003
5. Coil D, Albertson T, Banerjee S, et al. SARS-CoV-2 detection and genomic sequencing from hospital surface samples collected at UC Davis. *PLoS One*. 2014;16(6): e0253578. doi: 10.1371/journal.pone.0253578
6. Moore G, Rickard H, Stevenson D, et al. Detection of SARS-CoV-2 within the healthcare environment: a multi-centre study conducted during the first wave of the COVID-19 outbreak in England. *J. Hosp. Infect.* 2021;108:189–196. doi: 10.1016/j.jhin.2020.11.024
7. Sebre S, Abegaz W, Seman A, et al. Bacterial Profiles and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Isolates from Inanimate Hospital Environments at Tikur Anbessa Specialized Teaching Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Infect. Drug Resist.* 2020;13:4439–4448. doi: 10.2147/IDR.S286293
8. Chaoui L, Mhand R, Mellouki F, et al. Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria. *Int J Microbiol.* 2019;2019: 3236526. doi:10.1155/2019/3236526.
9. Entsar H Ahmed, Hebat-Allah M Hassan, Nahla M El-Sherbiny, et al. Bacteriological Monitoring of Inanimate Surfaces and Equipment in Some Referral Hospitals in Assiut City, Egypt. *Int. J. Microbiol.* 2019;2019:5907507. doi: 10.1155/2019/5907507.
10. Afle F, Agbankpe A, Johnson R, et al. Healthcare-associated infections: bacteriological characterization of the hospital surfaces in the University Hospital of Abomey-Calavi/so-ava in South Benin (West Africa). *BMC Infect. Dis.* 2019;19:28. doi: 10.1186/s12879-018-3648-x.
11. Egorov IA, Smirnova SS, Viatkina LG, et al. Sravnitel'naya kharakteristika riskov infitsirovaniya SARS-CoV-2 rabotnikov meditsinskikh organizatsii razlichnogo profilia v period pandemii Problemy gigienicheskoi bezopasnosti i profilaktiki narushenii trudospobnosti u rabotaiushchikh Materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi internet-konferentsii Nizhnii Novgorod 24 25 noiabria 2021 goda Pod redaktсие I A Umniaginoi Nizhnii Novgorod Medial 2021. 325–333. (In Russ)
12. «Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases. Section XLIV. Prevention of healthcare-associated infections (SaNPiN 3.3686-21). – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573660140> (date of the application: 03.02.2022).
13. Gomez-Ochoa S, Franco O, Rojas L, et al. COVID-19 in Health-Care Workers: A Living Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes. *Am J Epidemiol.* 2021;190(1):161–175. doi: 10.1093/aje/kwaa191.
14. Briko NI, Kagramanian IN, Nikiforov VV, et al. Pandemic COVID-19. prevention measures in the Russian Federation. *Epidemiology and vaccinal prevention*. 2020;19(2):4–12 (In Russ.). doi 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12.
15. Celebi G, Piskin N, Celik Beklevic A, et al. Specific risk factors for SARS-CoV-2 transmission among health care workers in a university hospital. *Am J Infect Control.* 2020;48(10):1225–1230. doi: 1016/j.ajic.2020.07.039.
16. Nguyen L, Drew D, Joshi A, et al. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet Public Heal.* 2020;5(9):e475–e483. doi: 10.1016/S2468-2667(20)30164-X.
17. COVID-19: Gigena i bezopasnost truda meditsinskikh rabotnikov, World Health Organization (WHO), International Labour Organization, (ILO). (Feb. 22, 2021)
18. Ratsionalnoe ispolzovanie sredstv individualnoi zashchity pri COVID-19 i soobrazhenia primenitelno k situatsii ikh ostroi nekhvatki, World Health Organization (WHO). (Apr. 06, 2020)
19. Casanova L, Alfano-Sobsey E, Rutala WA, et al. Virus transfer from personal protective equipment to healthcare employees' skin and clothing. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1291–1293. doi:10.3201/eid1408.080085.

Об авторах

- **Иван Андреевич Егоров** – младший научный сотрудник Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (922) 127-66-88, egorov_ia@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7153-2827.
- **Светлана Сергеевна Смирнова** – к. м. н., ведущий научный сотрудник, руководитель Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23; доцент кафедры эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы ФГБУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3. +7 (908) 917-59-86, smirnova_ss69@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9749-4611.
- **Владимир Алексеевич Мищенко** – научный сотрудник Лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита, Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (965) 515-34-89, mischenko_va@eniivi.ru. ORCID: 0000-0003-4280-283X.
- **Иван Владимирович Вялых** – к. вет. н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (912) 240-35-87, vialykhh_iv@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-3123-8359.
- **Александр Юрьевич Маркрян** – к. б. н., заведующий лабораторией респираторных вирусных инфекций Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (922) 199-09-80, markaryan_ay@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7286-6079.
- **Николай Николаевич Жуйков** – научный сотрудник Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (912) 263-22-52, zhuykov_nn@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7018-7582.
- **Сергей Викторович Романов** – главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», 620078, Россия, г. Екатеринбург, пер. Отдельный, 3. +7 (343) 374-13-79, Romanov_SV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0001-7357-9496.
- **Анжелика Владимировна Пономарева** – заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по Свердловской области, 620078, Россия, г. Екатеринбург, пер. Отдельный, 3. +7 (343) 374-13-79, Ponomareva_AV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 00000-0002-5236-3458.
- **Ирина Викторовна Чистякова** – заместитель главного врача ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», 620078, Россия, г. Екатеринбург, пер. Отдельный, 3. +7 (343) 270-15-98, Chistyakova_IV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0002-3247-9269.
- **Анастасия Сергеевна Киличина** – заведующая лабораторией контроля биологических факторов, врач-вирусолог ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», 620078, Россия, г. Екатеринбург, пер. Отдельный, 3. +7 (343) 270-15-90, Kilyachina_AS@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0003-1751-3462.
- **Олег Юрьевич Аверьянов** – главный врач ГАУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница», 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32. +7 (343) 231-91-01, averianovoy@mis66.ru. ORCID: 0000-0003-3955-349X.
- **Вероника Анатольевна Смирнова** – начальник эпидемиологического отдела ФБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница», 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32. +7 (922) 148-33-15, smirnovava@mis66.ru. ORCID: 0000-0002-9657-4257.
- **Ангелина Николаевна Большакова** – врач-эпидемиолог ФБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница», 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32. +7 (912) 274-72-12, anbolshakova73@gmail.com. ORCID: 0000-0001-7678-6984.
- **Елена Владимировна Верник** – главный врач Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в Ленинском, Верх-Исетском, Октябрьском и Кировском районах города Екатеринбурга», 620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мичурина, 91. +7 (908) 916-65-88, Mail_08@66.rospotrebnadzor.ru.
- **Наталья Александровна Пушкарева** – заведующая лабораторией контроля биологических факторов Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в Ленинском, Верх-Исетском, Октябрьском и Кировском районах города Екатеринбурга», 620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мичурина, 91. +7 (343) 350-21-64, Mail_08@66.rospotrebnadzor.ru.
- **Александр Владимирович Семёнов** – д. б. н., руководитель НИИ вирусных инфекций ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23; профессор кафедры экспериментальной биологии и биотехнологии Института естественных наук и математики Уральского федерального университета имени Первого президента России Б.Н. Ельцина, 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19. +7 (922) 119-41-46, alexvsemenov@gmail.com. ORCID: 0000-0003-3223-8219.

Поступила: 24.06.2022. Принята к печати: 14.09.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Ivan A. Egorov** – Junior researcher of the Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections of Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. +7 (922) 127-66-88, egorov_ia@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7153-2827.
- **Svetlana S. Smirnova** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher, head of the Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections of Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation; associate Professor of the Department of epidemiology, social hygiene and organization of sanitary-epidemiological service of Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 3 Repina St., Yekaterinburg, 620028, Russian Federation. +7 (908) 917-59-86, smirnova_ss69@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9749-4611.
- **Vladimir A. Mishchenko** – Researcher Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. +7 (965) 515-34-89, mischenko_va@eniivi.ru. ORCID: 0000-0003-4280-283X.
- **Ivan V. Vialykhh** – Cand. Sci. (Veterinary), Head of the Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. +7 (912) 240-35-87, vialykhh_iv@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-3123-8359.
- **Aleksandr Yu. Markarian** – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Respiratory Viral Infections, Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. +7 (922) 199-09-80, markaryan_ay@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7286-6079.
- **Nikolai N. Zhuykov** – researcher Ural-Siberian scientific-methodological center for the prevention of health-care-related infections Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. +7 (912) 263-22-52, zhuykov_nn@eniivi.ru. ORCID: 0000-0002-7018-7582.
- **Sergei V. Romanov** – Chief Physician of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region, 3 Otdel'nyy lane, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation. +7 (343) 374-13-79, Romanov_SV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0001-7357-9496.
- **Anzhelika V. Ponomareva** – Deputy Head of the Department of Rosspotrebnadzor for the Sverdlovsk Region, 3 Otdel'nyy lane, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation. +7 (343) 374-13-79, Ponomareva_AV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 00000-0002-5236-3458.
- **Irina V. Chistiakova** – Deputy Chief Physician of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region, 3 Otdel'nyy lane, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation. +7 (343) 270-15-98, Chistyakova_IV@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0002-3247-9269.
- **Anastasiya S. Kiliachina** – Head of the Laboratory for the Control of Biological Factors, Virologist of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region, 3 Otdel'nyy lane, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation. +7 (343) 270-15-90, Kilyachina_AS@66.rospotrebnadzor.ru. ORCID: 0000-0003-1751-3462.
- **Oleg Yu. Averianov** – Chief Physician State Autonomous Healthcare Institution of the Sverdlovsk Region «Regional Children's Clinical Hospital», 32 Seraphim Deryabina St., Yekaterinburg, 620149, Russian Federation. +7 (343) 231-91-01, averianovoy@mis66.ru. ORCID: 0000-0003-3955-349X.
- **Veronika A. Smirnova** – Head of the epidemiological department State Autonomous Healthcare Institution of the Sverdlovsk Region «Regional Children's Clinical Hospital», 32 Seraphim Deryabina St., Yekaterinburg, 620149, Russian Federation. +7 (922) 148-33-15, smirnovava@mis66.ru. ORCID: 0000-0002-9657-4257.
- **Angelina N. Bolshakova** – Epidemiologist State Autonomous Healthcare Institution of the Sverdlovsk Region «Regional Children's Clinical Hospital», 32 Seraphim Deryabina St., Yekaterinburg, 620149, Russian Federation. +7 (912) 274-72-12, anbolshakova73@gmail.com. ORCID: 0000-0001-7678-6984.
- **Elena V. Vernik** – Head doctor of the Branch Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in the Leninsky, Verkh-Issetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of the City of Yekaterinburg, 91 Michurina St., Yekaterinburg, 620075, Russian Federation. +7 (908) 916-65-88, Mail_08@66.rospotrebnadzor.ru.
- **Natalia A. Pushkareva** – Head of the Laboratory for the Control of Biological Factors of the Branch Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in the Leninsky, Verkh-Issetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of the City of Yekaterinburg, 91 Michurina St., Yekaterinburg, 620075, Russian Federation. +7 (343) 350-21-64, Mail_08@66.rospotrebnadzor.ru.
- **Aleksandr V. Semenov** – Dr. Sci. (Biol.), Head Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 23 Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation; Professor of the Department of experimental biology and biotechnology Institute of natural sciences and mathematics, Ural Federal University, 19 Mira str., Yekaterinburg, 620000, Russian Federation. +7 (922) 119-41-46, alexvsemenov@gmail.com. ORCID: 0000-0003-3223-8219.

Received: 24.06.2022. Accepted: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Сравнительный анализ разнообразия линий SARS-CoV-2, циркулирующих в Омской области в 2020–2022 годах

Е. А. Градобоева*¹, Ж. С. Тюлько^{1,2}, А. В. Фадеев³, А. Г. Василенко¹, В. В. Якименко¹

¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск, Россия

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск, Россия

³ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Актуальность. До настоящего времени не проводилось детального анализа циркулирующих в разное время вариантов возбудителя на территории Омской области. **Цель.** Провести сравнительный анализ разнообразия циркулирующих генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на основе молекулярно-генетических данных, определить генетические линии вируса и время их появления, сравнить полученные данные с данными базы GISAID. **Материалы и методы.** Проведено полногеномное секвенирование 222 первичных и 5 культуральных (пассажи на культурах клеток Vero E6 и СПЭВ) образцов вируса SARS-CoV-2, собранных в Омской области с апреля 2020 г. по февраль 2022 г., на платформах Oxford Nanopore Technologies и Illumina. Генетические линии определяли в Pangolin. Анализ проводили в MEGA7 и BioEdit. **Результаты.** Получено 227 полногеномных последовательностей вируса SARS-CoV-2. В базу данных GISAID загружено 222 генома. Определены линии, к которым относятся образцы, построены филогенетические деревья по различным областям генома вируса SARS-CoV-2, проведены оценка уровня гомологии геновариантов вируса и анализ мутаций в области S-белка. **Выводы.** По полученным данным можно ориентировочно судить о времени появления того или иного варианта вируса SARS-CoV-2, его закреплении и распространении в популяции, наблюдать редкие мутации и циркуляцию некоторых редких генетических линий вируса. Для оценки возможности значимых географически привязанных изменений генома вируса SARS-CoV-2 в Омской области полученных данных недостаточно. Варианты вируса, циркулирующие в области, группируются в один кластер с идентичными вариантами из других областей или стран. Более выраженную внутрикластерную дифференцировку линий можно наблюдать при анализе области RBD. Ситуация по COVID-19 в Омской области в целом совпадает с таковой во всей стране и мире. Однако это не исключает параллельного возникновения определённых мутаций на отдалённых друг от друга территориях.

Ключевые слова: COVID-19, Омская область, мониторинг, секвенирование SARS-CoV-2, геноварианты, линии SARS-CoV-2
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Градобоева Е. А., Тюлько Ж. С., Фадеев А. В. и др. Сравнительный анализ разнообразия линий SARS-CoV-2, циркулирующих в Омской области в 2020–2022 гг. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6): 24–33. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-24-33>

Comparative Analysis of the Diversity of SARS-CoV-2 Lines Circulating in Omsk Region in 2020–2022

EA Gradoboeva**¹, ZhS Tyulko^{1,2}, AV Fadeev³, AG Vasilenko¹, VV Yakimenko¹

¹Federal Budgetary Institution of Science «Omsk Research Institute of Natural Focal Infections», Rospotrebnadzor, Omsk, Russia

²Federal State Budgetary Educational Institution «Omsk State Medical University» of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Omsk, Russia

³Federal State Budgetary Institution «Smorodintsev Research Influenza Institute» of Ministry of Health of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Relevance. To date, no detailed analysis of the variants of the pathogen circulating at different times on the territory of the Omsk region has been carried out. **Aim.** Comparative analysis of the diversity of circulating variants of SARS-CoV-2 based on molecular genetic data, determine the lines and time of their appearance, compare the data obtained with data from the GISAID database.

* Для переписки: Градобоева Екатерина Алексеевна, младший научный сотрудник ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, г. Омск, пр. Мира, 7. +7 (908) 805-45-08, gradoboeva_ea@oniipi.org. ©Градобоева Е. А. и др.

** For correspondence: Gradoboeva Ekaterina A., junior researcher Omsk Research Institute of Natural Focal Infections Rospotrebnadzor, 7, pr. Mira, Omsk, 644080, Russia. +7 (908) 805-45-08, gradoboeva_ea@oniipi.org. ©Gradoboeva, et al.

Materials and methods. Genome-wide sequencing of 222 primary and 5 culture (passages on Vero E6 and SPEV cell cultures) samples of SARS-CoV-2 from the Omsk region, collected from April 2020 to February 2022, on Oxford Nanopore Technologies and Illumina platforms, was carried out. Genetic lines were determined in Pangolin. The analysis was performed in MEGA7 and BioEdit.

Results. 227 genome-wide SARS-CoV-2 sequences were obtained. 222 genomes have been uploaded to the GISAID database. The lines to which the samples belong were determined, phylogenetic trees were constructed for various regions of the SARS-CoV-2 genome, the levels of virus homology were assessed and mutations in the S-protein region were analyzed. **Conclusions.** According to the data obtained, it is possible to roughly judge the time of the appearance of a particular variant, its consolidation and distribution in the population, and observe the rare mutations and the circulation of some rare lines. To assess the possibility of significant geographically linked changes in the SARS-CoV-2 genome in the Omsk region, the data obtained are insufficient. Virus variants circulating in the region are grouped into one cluster with identical variants from other regions or countries. A more pronounced intracluster differentiation of the lines can be observed when analyzing the RBD region. The situation with COVID-19 in the Omsk region generally coincides with that in the whole country and the world. However, this does not exclude the parallel occurrence of certain mutations in remote territories from each other.

Keywords: COVID-19, Omsk region, monitoring, sequencing of SARS-CoV-2, genovariants, SARS-CoV-2 lineages

No conflict of interest to declare.

For citation: Gradoboeva EA, Tyulko ZhS, Fadeev AV et al. Comparative Analysis of the Diversity of SARS-CoV-2 Lines Circulating in Omsk Region in 2020-2022. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2022;21(6): 24–33 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-24-33>

Введение

Коронавирус SARS-CoV-2 является причиной такого заболевания, как новая коронавирусная инфекция, именуемая 2019-nCoV или, позднее, COVID-19, которая впервые вспыхнула в декабре 2019 г. в Китае в г. Ухань [1]. Болезнь быстро распространилась на другие страны и континенты, и 31 января 2020 г. – через месяц после первого случая в Ухане – количество подтверждённых случаев новой коронавирусной инфекции в мире составило 9826 [2]. Уже в начале марта 2020 г. ВОЗ объявила о пандемии SARS-CoV-2 ввиду скорости и масштабов распространения инфекции [3]. В семейство *Coronaviridae*, к которому относится SARS-CoV-2, входят и другие эпидемически значимые вирусы – SARS-CoV и MERS-CoV, характеризующиеся частыми возникновениями геномных изменений, таких как мутации, делеции и рекомбинации [4,5]. Также и SARS-CoV-2 претерпел тысячи одиночных мутаций [6] с момента сборки первого генома в январе 2020 г. [1]. Однако большинство мутаций не влияют на вирулентность и распространение вируса. Наиболее значимые мутации возникают в S-белке, а именно в рецептор-связывающем домене (Receptor-Binding Domain, RBD). Эти мутации ведут к изменению связывания RBD с рецептором клеток – ангиотензинпревращающего фермента 2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2, ACE2), что часто усиливает инфекционность вируса и определяет появление новых генетических вариантов SARS-CoV-2 [7]. Массовое секвенирование генома SARS-CoV-2 даёт возможность быстро выявлять и изучать изменение структуры генома вируса, его эволюцию, а также осуществлять вероятностное прогнозирование появления новых субтипов вируса [7,8]. С начала пандемии в международной базе данных GISAID [9] депонировано 11 585 177 геномов

SARS-CoV-2 (по данным на 27.06.2022). По данным Роспотребнадзора, на 27.06.2022 в Российской Федерации зарегистрировано 18 421 564 случаев COVID-19, в Омской области – 208 649 (<https://стопкоронавирус.рф>). Актуальность исследования заключается в том, что, несмотря на продолжающуюся регистрацию новых случаев COVID-19, до настоящего времени не проводилось детального изучения циркулирующих в разное время вариантов возбудителя на территории Омской области.

Цель – провести сравнительный анализ разнообразия циркулирующих генетических вариантов SARS-CoV-2 на основе молекулярно-генетических данных, определить генетические линии, выявленные на территории области, и время их появления, а также сравнить полученные нуклеотидные последовательности с некоторыми последовательностями из базы GISAID, представляющими отдельные варианты SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Образцы смывов из рото- и носоглотки в транспортной или вирусологической среде были доставлены из медицинских учреждений г. Омска для диагностики COVID-19 и проведения фрагментного секвенирования вируса SARS-CoV-2 во ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. Руководящими документами были: «Временные рекомендации по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV» [10] и приказ Роспотребнадзора от 19.02.2021 №56 «О совершенствовании молекулярно-генетического мониторинга штаммов возбудителя новой коронавирусной инфекции». Было проведено полногеномное секвенирование 222 первичных и 5 культуральных (пассажи на культурах клеток Vero E6 и СПЭВ) образцов

Original Articles

SARS-CoV-2, собранных в Омской области с апреля 2020 г. по февраль 2022 г., на платформах Oxford Nanopore Technologies и Illumina.

Отбор образцов

Образцы предварительно диагностировали в ПЦР Real time с помощью различных зарегистрированных отечественных тест-систем: «Вектор-ПЦРv-2019-nCoV-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирск), «SARS-CoV-2/SARS-CoV» (ДНК-Технология, Москва), «АмплиСенс® Cov-Bat-FL» (АмплиСенс, Москва), «OT-ПЦР-PB-SARS-CoV-2» (Синтол, Москва), «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 DUO» (НекстБио, Москва), «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (Вектор-Бест, Новосибирск), «COVID-2019 Amp», (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург). Для полногеномной амплификации отбирали образцы с пороговым циклом (Ct) не более 23.

Выделение нуклеиновых кислот

Процедуру проводили на автоматических станциях KingFisherFlex 96 (Thermo Fisher, США) и AutoPure96 (Allsheng, Китай) наборами для выделения на магнитных частицах (Биолабмикс, Новосибирск; Вектор-Бест, Новосибирск) или ручным методом с использованием набора «РИБО-преп» (АмплиСенс, Москва) или набора для выделения на колонках (Биолабмикс, Новосибирск).

Амплификация и секвенирование фрагментов

Использовали набор «БиоМастер OT-ПЦР–Color (2x)» (Биолабмикс, Новосибирск) и праймеры F44, R44, F47, R47 из описанного ранее протокола [11] для получения двух фрагментов гена S-белка вируса, результат амплификации оценивали по разделению продуктов реакции методом электрофореза в 1,7% агарозном геле. Секвенирование фрагментов проводили по методу Сенгера на капиллярных секвенаторах ABI 3500XI и SeqStudio Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием набора BigDye Terminator v1.1 (Applied Biosystems, США).

Полногеномная амплификация

Осуществляли по протоколам ARTIC V3 и ARTIC V4 (https://github.com/joshquick/artic-ncov2019/tree/master/primer_schemes/nCoV-2019) с использованием наборов «БиоМастер OT-ПЦР–Премиум (2x)» (Биолабмикс, Новосибирск) или NEBNext® ARTIC SARS-CoV-2 Companion Kit (New England Biolabs, США). Результаты оценивали в 1,7% агарозном геле или по кривой плавления с SYBR Green.

Подготовка библиотек и секвенирование

При подготовке библиотек Oxford Nanopore следовали инструкциям производителя и использовали набор «Ligation Sequencing kit 1D», «Набор для PCR-free мультиплексирования Native

Barcoding Expansion 1-96», «Набор для мультиплексирования PCR Barcoding Kit 96» (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Подготовку библиотек Illumina проводили с набором «Illumina DNA Prep» и «IDT for Illumina DNA UD Indexes» (Illumina, США) по инструкции. Секвенировали на приборах MinION с проточной ячейкой r9.4.1. и Illumina MiSeq с MiSeq Reagent Kits v3 600-cycle.

Сборка генома и анализ данных

Сборку геномов проводили с использованием программ minimap2 [12], SAMtools [13], iVar [14], Medaka (<https://github.com/nanoporetech/medaka>), BWA-MEM [15] и LoFreq [16] путём выравнивания на референсную последовательность Wuhan-Hu-1 (NCBI Reference Sequence: NC_045512.2). Множественное выравнивание выполняли в Unipro UGENE [17]. Филогенетическое дерево строили в MEGA7 [18] методом Neighbor-joining, уровень bootstrap-поддержки оценивали в 500 повторях. Количество мутаций рассчитывали в MEGA7. Уровни гомологии рассчитаны в BioEdit [19]. Генетические линии определяли в Pangolin (<https://pangolin.cog-uk.io>). Сборку и анализ данных фрагментного секвенирования осуществляли в Unipro UGENE.

Результаты и обсуждение

Получено 227 полногеномных последовательностей SARS-CoV-2, из них 222 последовательности первичных образцов и 5 – штаммов, изолированных на культурах клеток СПЭВ и Vero E6. В базу данных GISAID загружено 222 генома. Распределение генетических линий во времени исходя из полученных результатов представлено в таблице 1.

По полученным данным видно, что наибольшее число из анализируемых нами вирусов SARS-CoV-2, выявленных в Омской области с апреля 2020 г. по июнь 2021 г., относятся к B.1.1 (50,2%). Достаточно часто встречались также линии B.1.1.163 (12,4%), B.1.1.506 (7,4%) и B.1.1.294 (5,1%). Исходя из данных таблицы 1, можно предположить, что вариант Delta начал циркулировать в Омской области уже в мае 2021 г. (первый геном от 15.05.2021). Видно, что с мая–июня этого года он начал вытеснять другие линии SARS-CoV-2 вплоть до января 2022 г., когда был обнаружен новый вариант вируса. Вариант Omicron появился в области вероятно в начале января 2022 г. (первый геном от 05.01.2022) и начал замещать преобладающий ранее вариант Delta.

При построении филогенетического дерева были вырезаны непокрытые консервативные участки генома. Последовательности, имеющие протяженные несеквенированные участки или непокрытую переменную часть генома, были удалены из анализа. Ввиду массивности полученного дерева, последовательности, имевшие низкие уровни bootstrap-поддержки в отдельных кластерах, были сгруппированы по временному

Таблица 1. Представленность циркулирующих генетических линий в Омской области и время их выявления (серым отмечены линии, относящиеся к VOC (Variants of Concern) Delta (B. 1.617.2+AY. *) и Omicron (B. 1.1.529+BA. *))

Table 1. The representation of circulating genetic lines in the Omsk region and the time of their detection (lines related to VOC (Variants of Concern) Delta (B. 1.617.2+AY. *) and Omicron (B. 1.1.529+BA. *) are marked in gray)

Линия Rango Pango lineage v.4.1.1	Количество сиквенсов абс. Number of sequences abs.	Количество сиквенсов отн. % Number of sequences rel. %	Когда встречались When were they detected		
			2020	2021	2022
AT.1	2	0,9%		мар. Mar.	
AY.122 (Delta)	14	6,5%		май, июн., сен., окт., ноя., дек. May, Jun., Sep., Oct., Nov., Dec.	январь. Jan.
B.1	1	0,5%	апр. Apr.	мар. Mar.	
B.1.1	109	50,2%	апр., май, июн., июль, авг., сен., ноя., дек. Apr., May, Jun., Jul., Aug., Sep., Nov., Dec.	январь, март, апр., май Jan., Mar., Apr., May	
B.1.1.121	1	0,5%		фев. Feb.	
B.1.1.141	4	1,8%	ноя. Nov.	мар. Mar.	
B.1.1.161	2	0,5%		фев., март. Feb., Mar.	
B.1.1.163	27	12,4%	июнь, июль. Jun., Jul.		
B.1.1.172	1	0,5%		фев. Feb.	
B.1.1.184	7	3,2%	май, июль. May, Jul.		
B.1.1.294	11	5,1%	май, июнь, июль. May, Jun., Jul.	март. Mar.	
B.1.1.31	1	0,5%	июнь. Jun.		
B.1.1.317	1	0,5%		май May	
B.1.1.37	1	0,5%	апр. Apr.		
B.1.1.370	1	0,5%		март. Mar.	
B.1.1.396	1	0,5%	июль. Jul.		
B.1.1.398	1	0,5%		март. Mar.	
B.1.1.409	1	0,5%	июнь. Jun.		
B.1.1.506	16	7,4%	май, июль. May, Jul.		
B.1.617.2 (Delta)	3	1,4%		авг., сен. Aug., Sep.	январь. Jan.
BA.1 (Omicron)	2	0,9%			фев. Feb.
BA.1.1 (Omicron)	6	2,8%			январь, фев. Jan., Feb.

Таблица 1. Продолжение
Table 1. Continuation

Линия Pango Pango lineage v.4.1.1	Количество сиквенсов абс. Number of sequences abs.	Количество сиквенсов отн. % Number of sequences rel. %	Когда встречались When were they detected		
			2020	2021	2022
BA.1.15 (Omicron)	1	0,5%			фев. Feb.
BA.2 (Omicron)	1	0,5%			фев. Feb.
Unassigned	3	1,4%			
Итого Total	217	100%			

признаку (месяц отбора образца) для наглядности (итоговое число анализируемых геномов $n = 47$). Были построены деревья по полному геному и, с этой же выборкой, по вырезкам генов поверхностного гликопротеина S (в том числе отдельно по области, включающей RBD), нуклеокапсида N и оболочечного и мембранного белков E и M соответственно (вместе).

Наибольший интерес представляют результаты, полученные на основании полного генома и области RBD (рис. 1 и рис. 2 соответственно). Деревья, построенные по другим областям генома SARS-CoV-2, не показали существенных отличий вирусов между собой, вследствие чего рисунки не приводятся.

На рисунке 1 представлено филогенетическое дерево, построенное по полному геному. Заметно, что последовательности группируются по геновариантам. В некоторых случаях последовательности, классифицированные Pangolin идентично, различаются в зависимости от страны выявления.

При рассмотрении филогенетического дерева, полученного из вырезанного фрагмента генома, включающего RBD (см. рис. 2), видно, что последовательности так же кластеризуются по вариантам.

В этой части генома в пределах вариантов Omicron внутри кластера наблюдается более чёткое распределение по сублиниям. Так, например, заметно отделение линий варианта Omicron BA.1 от BA.1.1* и BA.2*. Среди вариантов Alpha и Beta последовательности из РФ группируются отдельно от последовательностей из Англии и Африки соответственно, несмотря на то, что отнесены Pangolin к одной и той же линии. В случае с вариантом Beta такое же отделение наблюдается и при использовании для построения дендрограммы полного генома (см. рис. 1). Что касается варианта Gamma, то чёткого разделения между линиями P.1 и P.1.16 не отмечается, однако в области RBD линия P.1 из Бразилии (где этот вариант был впервые обнаружен) лежит отдельно от линий P.1 и P.1.16 из Европы (Франция и Россия). По варианту Delta внутрикластерное расхождение линий представлено более чётко при анализе полного генома, чем по области RBD.

Таким образом, последовательности вариантов Delta и Omicron из Омской области также укладываются в соответствующий кластер (см. рис. 1 и 2). Однако в случае варианта Delta, в области RBD они не имеют выраженных отличий от других геномов в группе, тогда как при анализе полного генома внутрикластерные отличия более выражены, а в случае варианта Omicron – наоборот: больший интерес представляет распределение геномов по области RBD.

Проведён подсчёт количества мутаций в 188 нуклеотидных последовательностях, кодирующих S-белок вируса (число анализируемых кодонов $n = 1157$). Количество несинонимичных замен составило 50, синонимичных – 15. При этом почти 40% несинонимичных замен и лишь 27% синонимичных приходится на область S-белка, кодирующую RBD. Соотношение транзиций к трансверсиям равно 1,396. В таблице 2 приводится список аминокислотных замен в области RBD (а.о. 319-541), а также проявление этих мутаций в линиях Pango.

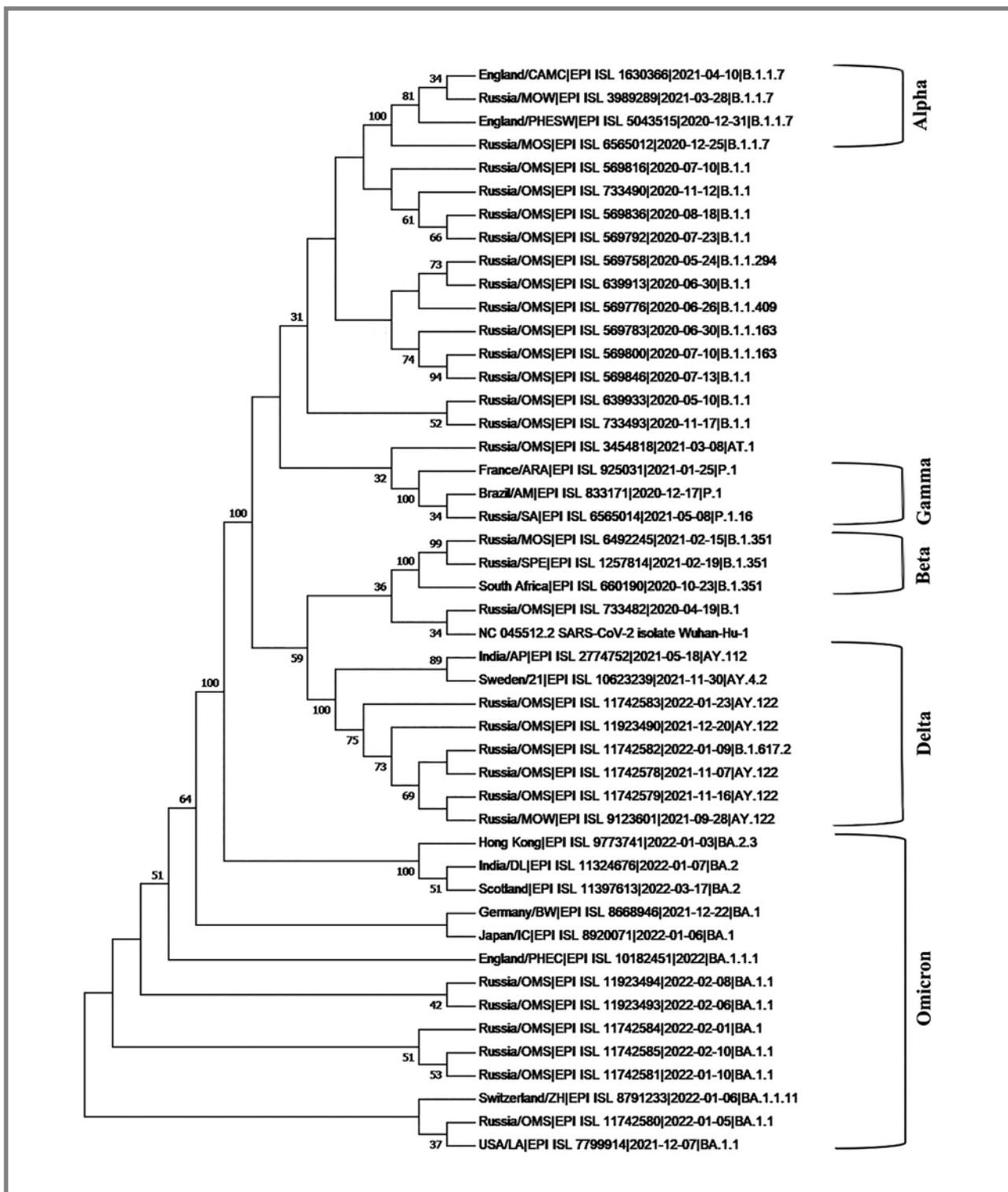
Из таблицы 2 видно, что большая часть мутаций в этой области являются типичными для линий вариантов Delta и Omicron, причём большая часть из них встречается в варианте Omicron. Однако среди наиболее распространённых мутаций (таких, например, как T478K или L452R) в геномах из Омской области встречаются также довольно редкие замены. Например, замена V367I, которая встречалась лишь в 39 геномах в России, в том числе в одном из г. Омска. Или L368I, встречаемость которой еще меньше – 21 российский геном, один из которых – омский.

При оценке уровней гомологии, для чего использовали данные полных геномов, наблюдаемые различия не превышали 0,8% (ввиду массивности таблица не приводится).

Преобладание в течение длительного времени линии V.1.1 объясняется, по-видимому, первоначальным распространением нового вируса среди неиммунного населения и, как следствие, высокой чувствительности человека к нему. Вероятно, с появлением иммунной прослойки, а также при инфицировании лиц с нарушениями в иммунной системе, вирус SARS-CoV-2 начал стремительно

Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное по полным геномам SARS-CoV-2 методом Neighbor-joining с bootstrap-поддержкой равной 500. Скобками обозначены наиболее значимые геноварианты (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron)

Figure 1. Phylogenetic tree constructed from complete SARS-CoV-2 genomes by Neighbor-joining with bootstrap support equal to 500. Brackets indicate the most significant gene variants (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron)



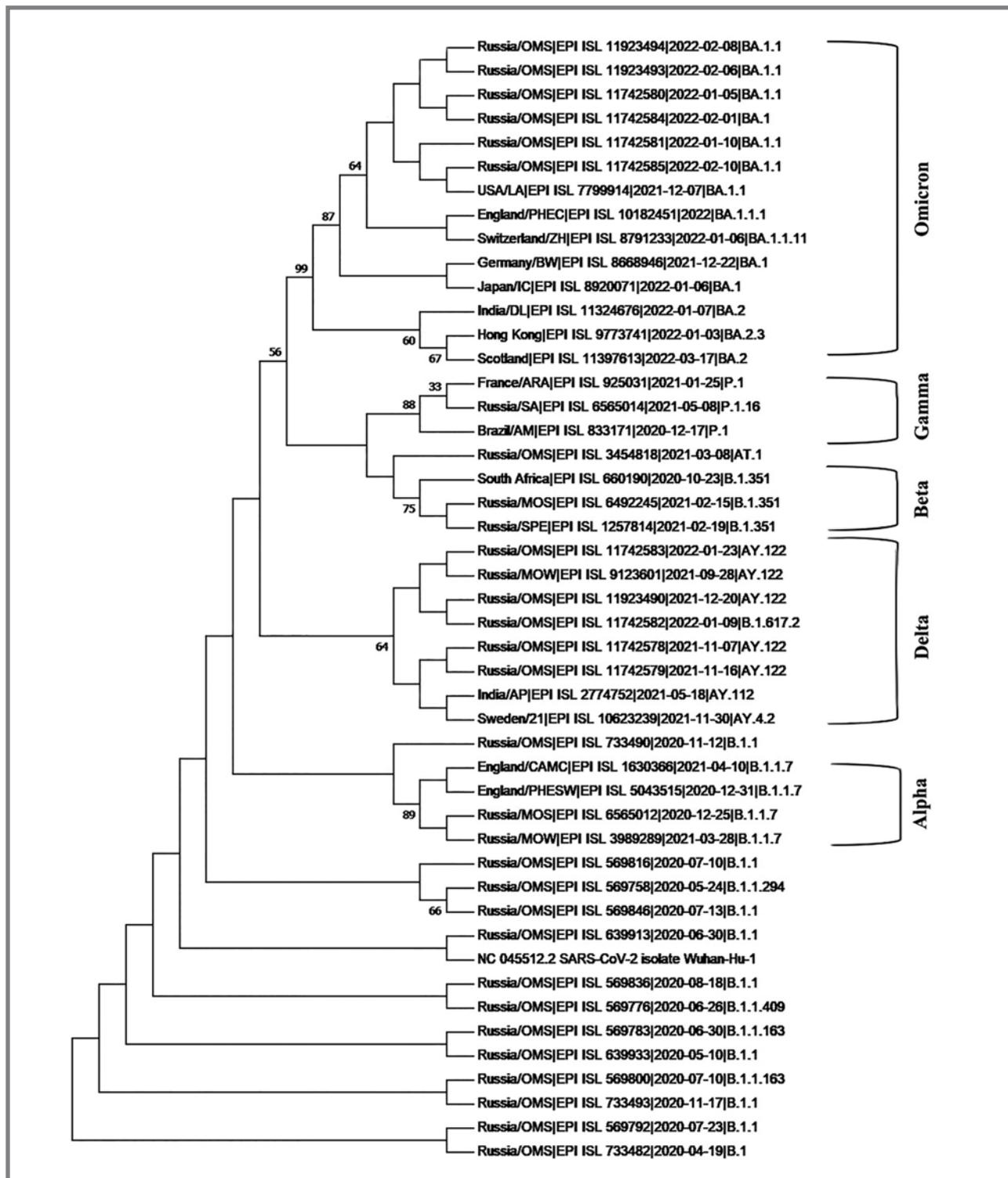
меняться, приобретая высокую инфекционность и уклоняясь от иммунного ответа, в результате чего новые линии замещают распространяемые ранее, как, например, в случае с возникновением вариантов Delta и Omicron [20,21]. Появление вариантов Delta и Omicron в Омской области примерно

совпадает по срокам с обнаружением этих вариантов в Москве и Санкт-Петербурге (апрель 2021 г. и декабрь 2021 г. соответственно), хотя основная волна происходила с небольшой задержкой, что связано с распространением патогена по логистическим цепочкам внутри страны.

Original Articles

Рисунок 2. Филогенетическое дерево, построенное по области генома SARS-CoV-2, включающей RBD (1156 н.о.), методом Neighbor-joining с bootstrap-поддержкой равной 500. Скобками обозначены наиболее значимые геноварианты (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron)

Figure 2. Phylogenetic tree constructed from the SARS-CoV-2 genome region, including RBD (1156 n.o.), by Neighbor-joining method with bootstrap support equal to 500. Brackets indicate the most significant gene variants (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron)



Любопытно, что среди случайно выбранных для полногеномного секвенирования образцов не оказалось вариантов Alpha, Beta и Gamma. По нашим данным, полученным при проведении фрагментного секвенирования в рамках генетического мониторинга штаммов, в Омской области было

зарегистрировано 5 случаев варианта Alpha (первый 18.03.2021, последний 09.06.2021) и лишь 1 случай варианта Beta (13.05.2021), вариант Gamma не был выявлен (принадлежность вируса к вариантам определяли по набору мутаций в полученных последовательностях фрагментов S-белка).

Таблица 2. Мутации в RBD-кодирующей области S-белка образцов вируса SARS-CoV-2 (первичных и культуральных, n = 222), собранных в Омской области в период 2020–2022 гг., и проявление их в линиях Pango v.4.1.1. В скобках указана принадлежность линии к варианту VOC (Delta или Omicron)
Table 2. Mutations in the RBD-coding region of the S-protein of SARS-CoV-2 virus samples (primary and cultural, n = 222) collected in the Omsk region in the period 2020–2022, and their manifestation in Pango lineages v.4.1.1. The parentheses indicate that the lineage belongs to the VOC variant (Delta or Omicron)

Исходная аминокислота Original amino acid	Позиция в S-белке Position in the S-protein	Мутация Mutation	Проявление в линиях Pango Manifestation in Pango lineages v.4.1.1
G	339	D	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
R	346	K	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
V	367	I	AY.122 (Delta)
L	368	I	B.1.617.2 (Delta)
S	371	L	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
S	373	P	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
S	375	F	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
K	417	N	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron)
N	440	K	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
G	446	S	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron)
L	452	R	AY.122 (Delta), B.1.617.2 (Delta)
S	477	N	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
T	478	K	AY.122 (Delta), B.1.617.2 (Delta), BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
E	484	A	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
E	484	K	B.1.1, AT.1, B.1.1.370
Q	493	R	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
G	496	S	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron)
Q	498	R	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
N	501	Y	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)
Y	505	H	BA.1 (Omicron), BA.1.1 (Omicron), BA.1.15 (Omicron), BA.2 (Omicron)

Кроме того, в базе данных GISAID есть только единственный геном варианта Alpha из Омска (EPI_ISL_3932098), однако эпидемиологический анамнез по данному образцу неизвестен, а геномы вариантов Beta и Gamma вовсе отсутствуют. Вероятно, эти варианты не получили здесь распространения, представляя только завозные случаи.

Также представляет интерес факт, что в Омской области выявлялись линии, геномы которых (по данным GISAID) встречались достаточно редко. Так, например, линия B.1.1.506 насчитывает 24 образца, из которых 22 представлены в России,

и 17 – непосредственно в Омской области, линия B.1.1.184, к которой в базе GISAID относятся 17 геномов, среди них 15 – российские, и 7 – омские. Некоторые линии, выявленные в Омской области, были обнаружены только в России: B.1.1.121, B.1.1.31, B.1.1.396. По всей видимости, это обусловлено эволюционными изменениями вируса и его приспособлением к восприимчивому организму на конкретной территории.

Более четкое распределение геномов по субтипам выражено в основном при детальном анализе части S-гена, кодирующей RBD, что связано

Original Articles

с возникновением новых вариантов благодаря изменениям преимущественно именно в этой области и ещё раз подтверждает опубликованные данные [7]. Отсутствие значимых различий по области генома, кодирующей белки E и M, обусловлено, очевидно, тем, что эти области считаются консервативными в отличие от областей гена N и наиболее неконсервативного гена S [6]. В нашем исследовании различий по гену N также не было выявлено, что, возможно, связано с особенностями выборки. Очевидно также, что для полноценного анализа изменений SARS-CoV-2 необходимы данные полных геномов.

Преобладание несинонимичных замен в последовательностях S-белка говорит о положительном действии отбора (прежде всего – взаимодействие с иммунной системой хозяина), а сконцентрированность их в области RBD влечёт за собой появление значимых при выявлении новых вариантов SARS-CoV-2 мутаций.

Проявление большей части мутаций в линиях варианта Omicron обуславливает высокую контагиозность и распространённость вируса и объясняет его принадлежность к вариантам с высоким эпидемиологическим потенциалом, относящимся к VOC [21]. Наличие в омских геномах редких мутаций связано, вероятно, как и встречаемость редких линий, с изменениями вируса и особенностями его циркуляции на конкретной территории.

Высокий уровень гомологии (> 99%) между отдельными вариантами вируса SARS-CoV-2 свидетельствует об их непосредственной связи и общности происхождения, а также о только начинающейся эволюции вируса.

Заключение

В результате проделанной работы по полученным молекулярно-генетическим данным были определены линии SARS-CoV-2, циркулирующие в Омской области в разное время (период 2020–2022 гг.).

Опираясь на полученную информацию, можно ориентировочно судить о времени появления того или иного варианта, а также о его закреплении в популяции и дальнейшем распространении. Кроме того, можно наблюдать циркуляцию некоторых редких линий, которые были обнаружены в большинстве случаев именно в Омской области. Однако, чтобы говорить о значимых географически

привязанных изменениях генома SARS-CoV-2, выявленных или, возможно, возникших в Омской области, полученных данных недостаточно.

По филогенетическому анализу видно, что варианты вируса, циркулирующие в области, группируются в один кластер с идентичными вариантами из других областей или стран. Более выраженную внутрикластерную дифференцировку линий можно наблюдать при анализе области RBD генома вируса SARS-CoV-2, несмотря на то, что вирусы разных вариантов гомологичны по отношению к друг другу. Проведённый анализ указывает также, что ввиду продолжающейся эволюции SARS-CoV-2 необходимо тщательно изучать отдельные мутации, являющиеся нетипичными для какого-либо генетического варианта вируса, которые, возможно, могут свидетельствовать о территориально связанных изменениях вируса и иметь эпидемиологическую значимость. Кроме того, необходимо уделять особое внимание изучению геномного участка возникновения мутаций.

Ориентируясь на полученные данные, можно сказать, что ситуация по COVID-19 в Омской области в целом совпадает с таковой во всей стране и мире. Это определяется логистическими цепочками, способствующим распространению и циркуляции какого-либо варианта вируса по всем континентам. Однако это не исключает параллельного возникновения определённых мутаций на отдалённых друг от друга территориях.

Таким образом, очевидно, что необходим систематический мониторинг SARS-CoV-2, а также обмен информацией о вирусе, заболеваемости и течении болезни. Это позволит расширить знания о патогене, углубить понимание его экологических особенностей, своевременно выявлять новые варианты вируса и проводить оценку их риска для здоровья населения.

Кроме того, необходимо уделять внимание изучению циркулирующих линий вируса на отдельно взятых территориях, что, возможно, даст более детальное понимание механизмов его эволюции и распространения.

Продолжение и дальнейшее развитие молекулярно-генетического мониторинга SARS-CoV-2 поможет не только контролировать эпидемиологическую ситуацию по этой инфекции, но и способствовать эпидемиологическому прогнозированию в будущем.

Литература

1. Wu F., Zhao S., Yu B., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020. Vol. 579. P. 265–269. DOI: 10.1038/s41586-020-2008-3.
2. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report – 11. 31 January 2020. Доступно по: <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf>. Ссылка активна на 27 июня 2022.
3. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020. 11 March 2020. Доступно по: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19--11-march-2020>. Ссылка активна на 27 июня 2022.
4. Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China // *Science*. 2004. Vol. 303, N5664. P. 1666–1669. DOI: 10.1126/science.1092002.
5. Lamers M.M., Raj V.S., Shafei M., et al. Deletion variants of Middle East respiratory syndrome coronavirus from humans, Jordan, 2015 // *Emerg. Infect. Dis.* 2016. Vol. 22, N4. P. 716–719. DOI: 10.3201/eid2204.152065.
6. Wang R., Hozumi Y., Yin C., et al. Decoding SARS-CoV-2 transmission and evolution and ramifications for COVID-19 diagnosis, vaccine, and medicine // *J. Chem. Inf. Model.* 2020. Vol. 60, N12. P. 5853–5865. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c00501.
7. Chen J., Wang R., Wang M., et al. Mutations strengthened SARS-CoV-2 infectivity // *J. Mol. Biol.* 2020. Vol. 432, N19. P. 5212–5226. DOI: 10.1016/j.jmb.2020.07.009.

- Li X., Wang W., Zhao X., et al. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV // *J. Med. Virol.* 2020. Vol. 92, N5. P. 501–511. DOI: 10.1002/jmv.25701.
- Shu Y., McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data – from vision to reality // *Eurosurveillance.* 2017. Vol. 22, N13. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494.
- Временные рекомендации Роспотребнадзора от 21 января 2020 года № 02/706-2020-27 по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV», Приложение 2. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/region/korono_virus/files/spec/vrem%20rekom.pdf. Ссылка активна на 27 июня 2022.
- Diseases CFV. Protocol for specific RT-PCRs for marker regions of the Spike region indicative of the UK SARS-CoV2 variant B.1.1.7 and the South African variant 501Y.V2. 2020. Доступно по: https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/laboratoire_de_virologie/protocol_amplification_voc_20201201_uk_geneva.pdf. Ссылка активна на 06.02.2021.
- Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences // *Bioinformatics.* 2018. Vol. 34, N18. P. 3094–3100. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty191.
- Li H., Handsaker B., Wysoker A., et al. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools // *Bioinformatics.* 2009. Vol. 25, N16. P. 2078–2079. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
- Grubaugh N.D., Gangavarapu K., Quick J., et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar // *Genome Biol.* 2019. Vol. 20, N8. DOI: 10.1186/s13059-018-1618-7.
- Li H. Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM // *ArXiv.* 2013. Vol. 1303. DOI: 10.48550/arXiv.1303.3997.
- Wilm A., Aw P.P., Bertrand D., et al. LoFreq: a sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets // *Nucleic Acids Res.* 2012. Vol. 40, N22. P. 11189–11201. DOI: 10.1093/nar/gks918.
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics.* 2012. Vol. 28, N8. P. 1166–1167. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // *Molecular Biology and Evolution.* 2016. Vol. 33, N7. P. 1870–1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- Hall, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 1999. Vol. 41. P. 95–98.
- Mlcochova P., Kemp S.A., Dhar M.S., et al. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature.* 2021. Vol. 599. P. 114–119. DOI: 10.1038/s41586-021-03944-y.
- Ren S. Y., Wang W. B., Gao R. D., et al. Omicron variant (B.1.1.529) of SARS-CoV-2: Mutation, infectivity, transmission, and vaccine resistance // *World journal of clinical cases.* 2022. Vol. 10, N1. P. 1–11. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i1.1.

References

- Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579:265–9. DOI: 10.1038/s41586-020-2008-3.
- World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report – 11. 31 January 2020. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf>. Accessed: 27 Jun 2022.
- WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020. 11 March 2020. Available at: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. Accessed: 27 Jun 2022.
- Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China. *Science.* 2004;303(5664):1666–9. DOI: 10.1126/science.1092002.
- Lamers MM, Raj VS, Shafiq M, et al. Deletion variants of Middle East respiratory syndrome coronavirus from humans, Jordan, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(4):716–9. DOI: 10.3201/eid2204.152065.
- Wang R, Hozumi Y, Yin C, et al. Decoding SARS-CoV-2 transmission and evolution and ramifications for COVID-19 diagnosis, vaccine, and medicine. *J Chem Inf Model.* 2020;60(12):5853–65. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c00501.
- Chen J, Wang R, Wang M, et al. Mutations strengthened SARS-CoV-2 infectivity. *J Mol Biol.* 2020;432(19):5212–26. DOI: 10.1016/j.jmb.2020.07.009.
- Li X, Wang W, Zhao X, et al. Chaillon. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV. *J Med Virol.* 2020;92(5):501–11. DOI: 10.1002/jmv.25701.
- Shu Y, McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data – from vision to reality. *Eurosurveillance.* 2017;22(13). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494.
- Временные рекомендации Роспотребнадзора от 21 января 2020 года № 02/706-2020-27 по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV», Приложение 2. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/region/korono_virus/files/spec/vrem%20rekom.pdf. Accessed: 27 Jun 2022.
- Diseases CFV. Protocol for specific RT-PCRs for marker regions of the Spike region indicative of the UK SARS-CoV2 variant B.1.1.7 and the South African variant 501Y.V2. 2020. Available at: https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/laboratoire_de_virologie/protocol_amplification_voc_20201201_uk_geneva.pdf. Accessed: 06.02.2021.
- Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics.* 2018;34(18):3094–100. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty191.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009;25(16):2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
- Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol.* 2019;20(8). DOI: 10.1186/s13059-018-1618-7.
- Li H. Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs with BWA-MEM. *ArXiv.* 2013;1303. DOI: 10.48550/arXiv.1303.3997.
- Wilm A, Aw PP, Bertrand D, et al. LoFreq: a sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(22):11189–201. DOI: 10.1093/nar/gks918.
- Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M, the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012;28(8):1166–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution.* 2016;33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 1999;41:95–8.
- Mlcochova P, Kemp SA, Dhar MS, et al. SARS-CoV-2 B.1.617.2 Delta variant replication and immune evasion. *Nature.* 2021;599:114–119. DOI: 10.1038/s41586-021-03944-y.
- Ren SY, Wang WB, Gao RD, et al. Omicron variant (B.1.1.529) of SARS-CoV-2: Mutation, infectivity, transmission, and vaccine resistance. *World journal of clinical cases.* 2022;10(1):1–11. DOI: 10.12998/wjcc.v10.i1.1.

Об авторах

- Екатерина Алексеевна Градобоева** – младший научный сотрудник, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. +7 (908) 805-45-08, Gradoboeva_EA@oniipi.org. 0000-0002-2046-9872.
- Жанна Сергеевна Тюлько** – старший научный сотрудник, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора; доцент, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (913) 147-21-14, tjs@omsk-osma.ru. 0000-0001-8536-0520.
- Артем Викторович Фадеев** – старший научный сотрудник, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России. +7 (952) 249-68-21, afadeew@gmail.com. 0000-0003-3558-3261.
- Алексей Геннадьевич Василенко** – научный сотрудник, врач-эпидемиолог, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. +7 (923) 687-77-38, Vasilenko_AG@oniipi.org. 0000-0002-2754-6359.
- Валерий Викторович Якименко** – заведующий лабораторией, главный научный сотрудник, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора. +7 (905) 099-44-89, Yakimenko_VV@oniipi.org. 0000-0001-9088-3668.

Поступила: 28.09.2022. Принята к печати: 20.11.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Ekaterina A. Gradoboeva** – junior researcher, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Rosпотребнадзор. +7 (908) 805-45-08, Gradoboeva_EA@oniipi.org. 0000-0002-2046-9872.
- Zhanna S. Tyulko** – senior researcher, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Rosпотребнадзор; associate professor of Omsk State Medical University of Health of the Russian Federation. +7 (913) 147-2114, tjs@omsk-osma.ru. 0000-0001-8536-0520.
- Artem V. Fadeev** – senior researcher, Smorodintsev Research Influenza Institute of Ministry of Health of the Russian Federation. +7 (952) 249-68-21, afadeew@gmail.com. 0000-0003-3558-3261.
- Aleksei G. Vasilenko** – researcher, epidemiologist, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Rosпотребнадзор. +7 (923) 687-77-38, Vasilenko_AG@oniipi.org. 0000-0002-2754-6359.
- Valery V. Yakimenko** – head of laboratory, chief researcher, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Rosпотребнадзор. +7 (905) 099-44-89, Yakimenko_VV@oniipi.org. 0000-0001-9088-3668.

Received: 28.09.2022. Accepted: 20.11.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Доклинические исследования специфической активности живой культуральной вакцины VACΔ6 против оспы и других ортопоксвирусных инфекций

С. Н. Щелкунов*, С. Н. Якубицкий, А. Е. Нестеров, И. В. Колосова, А. А. Сергеев, А. В. Зайковская, А. С. Кабанов, Е. А. Нечаева, М. П. Богрянцева, С. В. Усова, Н. С. Куцерубова, Т. В. Трегубчак, Е. В. Гаврилова, Р. А. Максютков

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Новосибирская область

Резюме

Актуальность. Эпидемиологическая обстановка в мире характеризуется увеличением заболеваемости людей и животных ортопоксвирусными инфекциями. В связи с этим необходимо разрабатывать новые безопасные вакцины против этих инфекций. **Цель.** Проведение доклинических исследований специфической активности вакцины против оспы и других ортопоксвирусных инфекций VACΔ6 на основе вируса осповакцины вируса осповакцины (ВОВ) с шестью нарушенными генами вирулентности. **Материалы и методы.** Исследования выполнены в соответствии с требованиями Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические препараты), Государственной фармакопеи XIII и Европейской Фармакопеи 7.0. **Результаты и обсуждение.** Вакцинный штамм VACΔ6 ВОВ на модели внутримозгового введения мышам-сосункам проявил значительно уменьшенную нейровирулентность, а на модели внутрикожного введения кроликам – сниженную воспалительно-некротическую активность по сравнению с классической оспенной живой вакциной первого поколения, разрешённой для использования в России. Доклинические исследования трёх серий готовой лекарственной формы вакцины VACΔ6 показали её подлинность, термостабильность, апиrogenность и безвредность. При двукратной внутрикожной вакцинации кроликов в дозе 10⁶ оспообразующих единиц (ООЕ) обеспечивался 100% защитный эффект против интраназального инфицирования кроликов ВОВ штамм НВ-92 в дозе 4,9 Ig бляшкообразующих единиц (БОЕ) (1995 ЛД₅₀) и при двукратной внутрикожной вакцинации мышей в дозе 10⁶ ООЕ обеспечивалась полная защита против интраназального инфицирования мышей вирусом экстремелии штамм К1 в дозе 3,05 Ig БОЕ (56 ЛД₅₀). **Вывод.** На основании проведённого комплекса исследований можно заключить, что созданная вакцина четвёртого поколения VACΔ6 является более безопасной по сравнению с Вакциной оспенной живой первого поколения и не уступает ей по иммуногенным и протективным свойствам. **Ключевые слова:** живая оспенная вакцина нового поколения, доклинические исследования, специфическая активность вакцины, вирус осповакцины, вирус натуральной оспы
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Щелкунов С. Н., Якубицкий С. Н., Нестеров А. Е. и др. Доклинические исследования специфической активности живой культуральной вакцины VACΔ6 против оспы и других ортопоксвирусных инфекций. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(6): 34–47. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-34-47>

Preclinical Studies of the Specific Activity of the Live Culture Vaccine VACΔ6 against Smallpox and other Orthopoxvirus Infections

SN Shchelkunov**, SN Yakubitskiy, AE Nesterov, IV Kolosova, AA Sergeev, AV Zaykovskaya, AS Kabanov, EA Nechaeva, MP Bogryantseva, SV Usova, NS Kutserubova, TV Tregubchak, EV Gavrilova, RA Maksyutov
Federal Budgetary Research Institution State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Novosibirsk region, Russia

Abstract

Relevance. The epidemiological situation in the world is characterized by an increase in the incidence of orthopoxvirus infections in humans and animals. In this regard, it is necessary to develop new safe vaccines against these infections. **Aim.** Conducting preclinical studies on the specific activity of the live vaccine against smallpox and other orthopoxvirus infections VACΔ6 based on the vaccinia virus (VACV) with six deleted virulence genes are presented. **Materials and methods.** The studies were performed in accordance

* Для переписки: Щелкунов Сергей Николаевич, д. б. н., профессор, главный научный сотрудник, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, Кольцово, Новосибирская область, Россия. +7 (903) 939-94-80, snschel@rambler.ru. ©Щелкунов С. Н. и др.

** For correspondence: Shchelkunov Sergei N., Dr. Sci. (Biol.), Professor, Principal Researcher, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology (SRC VB) «Vector», Rospotebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559, Russia. +7 (903) 939-94-80, snschel@rambler.ru. ©Shchelkunov SN, et al.

with the requirements of the Guidelines for conducting preclinical studies of drugs (immunobiological preparations), the State Pharmacopoeia XIII and the European Pharmacopoeia 7.0. **Results and discussion.** The vaccine strain VACΔ6 VACV showed significantly reduced neurovirulence in the model of intracerebral administration to suckling mice, and reduced inflammatory-necrotic activity in the model of intradermal administration to rabbits compared to the classical first-generation smallpox live vaccine approved for use in Russia. Preclinical studies of three series of the finished dosage form of the VACΔ6 vaccine showed its authenticity, thermal stability, non-pyrogenicity and safety. Double intradermal vaccination of rabbits at a dose of 10^6 PFU/animal, a 100% protective effect was provided against the intranasal infection of rabbits with VACV strain HB-92 at a dose of $1995 LD_{50}$ and a double intradermal vaccination of mice at a dose of 10^6 PFU/animal, full protection was provided against the intranasal infection of mice with ectromelia virus strain K1 at a dose of $56 LD_{50}$. **Conclusion.** Based on the conducted complex of studies, it can be concluded that the created vaccine of the fourth generation VACΔ6 is safer compared to the live smallpox vaccine of the first generation and is not inferior to it in immunogenic and protective properties.

Keywords: new generation live smallpox vaccine, preclinical studies, specific vaccine activity, smallpox vaccine virus, smallpox virus
No conflict of interest to declare.

For citation: Shchelkunov SN, Yakubitskiy SN, Nesterov AE et al. Preclinical studies of the specific activity of the live culture vaccine VACΔ6 against smallpox and other orthopoxvirus infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 34–47 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-34-47>

Вирус натуральной оспы (ВНО) вместе с такими патогенными для человека видами, как вирусы оспы обезьян (ВОО), оспы коров (ВОК), оспы буйволов (ВОБ) и осповакцины (ВОВ), принадлежит к роду *Orthopoxvirus* семейства *Poxviridae* [1]. Ортопоксвирусы антигенно и иммунологически близки друг другу и дают перекрёстные серологические реакции и иммунную защиту. ВНО вызывает натуральную оспу – одно из наиболее опасных и смертоносных, высоко контагиозных инфекционных заболеваний человека со смертностью 20–30%. Это заболевание только в XX веке, когда выполнялись активные противоэпидемические мероприятия и массовая противооспенная вакцинация, унесло сотни миллионов жизней [2]. При этом натуральная оспа – единственное инфекционное заболевание человека, которое в результате глобальной кампании вакцинации и противоэпидемического контроля было ликвидировано к концу 1977 г., что является одним из величайших достижений медицинской науки. Учитывая наличие тяжёлых поствакцинальных осложнений при использовании классической живой вакцины первого поколения и подтверждение ликвидации натуральной оспы, Всемирная организация здравоохранения в 1980 г. рекомендовала вакцинацию против данной инфекции в дальнейшем не проводить [1,3].

В результате отказа 40 лет назад от повсеместной вакцинации против натуральной оспы в человеческой популяции с каждым годом увеличивается доля населения, не имеющая специфического иммунитета не только против данного заболевания, но и против зоонозных ортопоксвирусных инфекций человека, обусловленных ВОО, ВОК, ВОБ и ВОВ [4]. Распространение этих вирусов в человеческой популяции потенциально может привести к их адаптации к иммунной системе человека и появлению вирусных вариантов, эпидемически опасных для людей [5]. Учитывая растущие масштабы транспортных сообщений по всему

миру, вероятность распространения рассматриваемых зоонозных ортопоксвирусов становится крайне высокой, что подтверждается завозными из Африки случаями заболевания людей оспой обезьян в США, Британии, Израиле и Сингапуре [6].

Кроме того, значительные успехи в развитии современной синтетической биологии обуславливают возрастающую угрозу биотерроризма. В одной из работ последних лет продемонстрирована возможность синтеза геномной ДНК и оживления вируса оспы лошадей, близкородственного ВНО [7].

Потенциальное появление и возрождение заболеваний человека, вызываемых ортопоксвирусами, требует разработки адекватных контрмер. Единственным методом борьбы с натуральной оспой, доказавшим свою эффективность, является вакцинопрофилактика. Но использование классических живых вакцин первого поколения на основе ВОВ для вакцинации населения в настоящее время может привести к ещё большему числу побочных реакций и более тяжёлым их проявлениям, чем во время кампании ликвидации натуральной оспы. Примерно 25% современного населения планеты противопоказана противооспенная вакцинация классической вакциной. В первую очередь это беременные женщины и люди с супрессивным состоянием иммунитета, вызванным раком, трансплантацией органов, ВИЧ-инфекцией и т.п., а также лица с заболеваниями сердца, экземой и атопическим дерматитом [8]. Поэтому настоятельной необходимостью является разработка противооспенной (противоортопоксвирусной) вакцины нового поколения, которая была бы безопасна, но по-прежнему высокоиммуногенна.

Живая противооспенная вакцина первого поколения представляла собой препарат ВОВ, полученный размножением вируса на коже телят или других животных. Новейший подход к получению аттенуированных противооспенных вакцин так называемого четвёртого поколения состоит во введении в вирусный геном методами генетической

Original Articles

инженерии направленных делеций/инсерций, нарушающих гены, контролирующие защитные реакции организма против вирусной инфекции [5]. Ранее нами была проведена работа по получению методами генетической инженерии штамма BOB VACΔ6 с шестью нарушенными генами вирулентности, и была продемонстрирована перспективность его использования в качестве вакцины четвертого поколения против ортопоксвирусных инфекций [9].

Разрабатываемые профилактические вакцины должны проходить соответствующие стадии доклинического исследования согласно нормативным документам, не противоречащим основам законодательства РФ об охране здоровья граждан, ФЗ РФ от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», национальных и отраслевых стандартов РФ и др. В первую очередь необходимо проводить доклинические исследования на животных, подтверждающие безвредность и эффективность препарата [10]. В случае доклинических исследований противооспенных вакцин программу исследований разрабатывают на основе Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунологические препараты), глава 26 «Доклинические исследования оспенной вакцины» [11], РД 42-28-8-89 «Доклинические испытания новых медицинских лекарственных и иммунологических препаратов» [12] и Европейской Фармакопеи 7.0 [13].

Основной трудностью для лицензирования новых противооспенных вакцин является невозможность напрямую продемонстрировать, что вновь созданные вакцины индуцируют защитный (протективный) иммунитет против оспы у людей. Так как натуральная оспа была ликвидирована, невозможно протестировать эффективность новых вакцин в отношении естественного заболевания. Вместо этого вакцины должны тестироваться и сравниваться с ранее используемыми в период ликвидации оспы традиционными противооспенными вакцинами на суррогатных животных-моделях натуральной оспы [14].

Мышь является подходящим объектом для изучения патогенеза ортопоксвирусных инфекций и развития иммунных реакций в ответ на такие инфекции/вакцинации [15]. Кроме этого, белые мыши являются более чувствительным индикатором энцефалитогенной способности вирусов при внутримозговом заражении по сравнению с другими животными [16]. Также в качестве модели могут служить кролики, у которых, как и у приматов, при нанесении BOB на эпилированную кожу кожные поражения напоминают вакцинальный процесс у человека [1].

Ещё одним важным подходом является использование теста нейтрализации инфекционности ВНО сыворотками крови иммунизированных животных [17]. Результаты теста могут быть использованы в качестве эталонных при сравнении традиционных вакцин с вновь созданными противооспенными вакцинами.

Цель работы – проведение доклинических исследований специфической активности вакцины против оспы и других ортопоксвирусных инфекций VACΔ6 на основе вируса осповакцины с шестью нарушенными генами вирулентности.

Материалы и методы**Вирусы и культура клеток**

В работе использовали вакцинный штамм и производственный штамм BOB VACΔ6 [9] и штаммы BOB Л-ИВП [18], НВ-92 [19], а также штамм К1 вируса экстремелии (ВЭ) из коллекции вирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. В качестве контроля и вакцины сравнения служил отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины ОСО 42-28-113-2015 (далее – ОСО оспенной вакцины) [20], аттестованный на основе Вакцины оспенной живой (серия № 130406, штамм BOB Л-ИВП) производства ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ (вакцина первого поколения) [21], полученный из ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ.

Вирус VACΔ6 размножали на перевиваемой линии клеток почки африканской зеленой мартышки 4647, полученной из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и аттестованной ГИСК им. Л. А. Тарасевича в соответствии с требованиями РД 42-28-10-89 и рекомендованной для производства профилактических МИБП (протокол № 14 от 28.10.2003 г. заседания Ученого Совета ГИСК им. Л. А. Тарасевича; протокол № 9 от 20.11.2003 г. Комитета МИБП).

Животные

Мыши линии BALB/c, аутбредные мыши стока ICR, морские свинки гладкошерстной породы и кролики породы Шиншилла получены из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Подопытных животных содержали на стандартном рационе с достаточным количеством воды согласно ветеринарному законодательству и в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях. Манипуляции на животных были проведены с одобрения комитета по биоэтике ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол № 3 от 26.05.2017).

Наработка готовой лекарственной формы (ГЛФ) вакцины VACΔ6

Монослой культуры клеток 4647, выращенный в культуральных флаконах (площадь ростовой поверхности одного флакона 150 см²), инфицировали производственным штаммом BOB VACΔ6 с множественностью 0,1 БОЕ/кл. Инкубировали 48–72 ч. при температуре 37 °С до выявления полного цитопатического действия, после чего получали криолизат инфицированных клеток (три цикла замораживания-оттаивания), который обрабатывали

на ультразвуковом дезинтеграторе. Клеточный дебрис осаждали центрифугированием в течение 15 мин. при 5000 об./мин. и 4 °С. Вирус из полученного супернатанта осаждали центрифугированием при 14000 об./мин. и 4 °С в течение 2 ч. Осадок ресуспендировали в 0,9% растворе натрия хлорида, обрабатывали на ультразвуковом дезинтеграторе и добавляли к полученному препарату стабилизатор в составе: сахароза (3%), пептон (3%) и желатоза (3%), после чего разливали в ампулы стеклянные для фармацевтической промышленности по ISO 9187, (Лонг Шенг Фарма Лимитед, Гонконг), по 0,2 мл и лиофильно высушивали.

Готовая лекарственная форма вакцины VACΔ6 была аттестована в Отделе биологического и технологического контроля ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора в соответствии с проектом фармакопейной статьи предприятия, разработанным с учётом требований Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические препараты) [11], Государственной фармакопеи XIII [22] и Европейской Фармакопеи 7.0 [13].

Исследование безвредности серий ГЛФ вакцины VACΔ6

Изучение аномальной токсичности (безвредности) трёх серий препарата «Вакцина VACΔ6» на животных проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII (том 1, с. 947, ОФС. 1.2.4.0004.15 «Аномальная токсичность») [22] и Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические препараты), часть вторая (с. 121 и 488) [11].

Для определения аномальной токсичности каждой серии ГЛФ VACΔ6 использовали пять белых мышей ICR весом 17–20 г и двух морских свинок массой 250–300 г. Содержимое ампул растворяли в 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида (использовано по 7 ампул каждой серии вакцины).

Препарат по 1 мл вводили мышам внутривенно, а морским свинкам – подкожно. Наблюдение за животными осуществляли ежедневно в течение 7 сут с регистрацией всех изменений состояния и здоровья каждого животного.

Исследование пирогенности серий ГЛФ вакцины VACΔ6

Исследование осуществляли в соответствии с требованиями, изложенными в ГФ XIII, том 1, с. 951, ОФС.1.2.4.0005.15 «Пирогенность» [22]. Тест-доза препарата – 1 прививочная доза на 1 кролика. Для разведения использовали изотонический раствор (0,9%) натрия хлорида для инъекций (ФС.2.2.0014.15).

Исследование пирогенности проводили на здоровых кроликах массой 2,5–2,8 кг, ранее не использованных в работе. В течение 3 сут перед опытом у каждого подопытного кролика ежедневно утром до дачи корма измеряли температуру и массу

тела. В результате были отобраны 9 кроликов, которые в течение этого срока не теряли в массе тела и температура тела которых не превышала 39,5 °С. Согласно требованиям ГФ, на каждую серию использовали по 3 кролика.

Вечером накануне испытания у животных отбирали остаток корма, до и во время опыта корм животные не получали, воду давали без ограничения.

В день испытания перед введением вакцины каждого кролика взвешивали и, с интервалом 30 мин., дважды измеряли температуру тела. Различия в показаниях температуры у одного и того же животного не превышали 0,2 °С. За исходную температуру принимали величину последнего результата измерения перед введением препарата. Содержимое ампулы ГЛФ растворяли в 1,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида и вводили в ушную вену не позднее, чем через 15–30 мин. после последнего измерения температуры, – 1 доза на кролика.

Измерения температуры после введения препарата осуществляли с интервалом 30 мин. в течение трёх часов.

Результаты и обсуждение

В процессе выполнения исследований по подготовке к доклиническим исследованиям было наработано 446 ампул вакцинного штамма и затем 600 ампул производственного штамма VACΔ6 BOB и заложено на хранение. Производственный штамм VACΔ6 BOB был использован для наработки посевного материала и далее изготовления серий ГЛФ Вакцины против натуральной оспы и других ортопоксвирусных инфекций на основе вируса осповакцины, живой культуральной (далее – Вакцина VACΔ6).

Наработали три серии ГЛФ «Вакцина VACΔ6»: 01-05.17, 02-05.17 и 03-05.17 в количестве 943, 938 и 882 ампул соответственно.

Изучение стабильности вакцины VACΔ6 при хранении

Изучение стабильности лиофильно высушенного производственного штамма VACΔ6 BOB оценивали при помощи стандартного теста ускоренного хранения, рекомендованного Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические препараты) [11], при температуре 37 ± 1 °С в течение 28 суток с последующим определением специфической активности, а также при длительном хранении при температуре от 2 до 8 °С с периодической оценкой специфической активности через каждые 3 месяца хранения.

Специфическую активность оценивали путём титрования в каждой временной точке содержимого трёх ампул производственного штамма, хранившихся при разных температурных условиях. Для этого содержимое ампулы растворяли в 1 мл среды DMEM. Из приготовленного таким образом вирусосодержащего материала готовили

Original Articles

последовательные 10-кратные разведения на среде DMEM и титровали на монослое культуры клеток 4647 методом бляшек. Титр вируса определяли в бляшкообразующих единицах в мл (БОЕ/мл).

Тест ускоренного хранения показал, что титр производственного штамма VACΔ6 BOB после прогревания при температуре 37 °С в течение 28 суток снизился с исходного $1,11 \pm 0,32 \times 10^7$ БОЕ/мл до $0,16 \pm 0,02 \times 10^7$ БОЕ/мл. После хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение более 5 лет (63 месяца) (табл. 1) защитный титр препарата практически остался на одном уровне.

На основании полученных результатов можно заключить, что производственный штамм VACΔ6 высоко стабилен при температуре хранения от 2 до 8 °С.

Специфическая активность серий ГЛФ вакцины VACΔ6 на хорион-аллantoисных оболочках развивающихся куриных эмбрионов (ХАО РКЭ)

Инфекционный титр ГЛФ штамма VACΔ6 BOB в ампулах каждой серии также определяли путём

заражения жизнеспособных 11–12 суточных РКЭ с предварительно отслоенными ХАО и последующим подсчетом специфических поражений (оспин) на них, вызванных BOB. Для этого содержимое трёх ампул каждой серии ГЛФ VACΔ6 растворяли в 3 мл раствора Хэнкса с добавлением стрептомицина (концентрация 100 мкг/мл) и пенициллина (концентрация 100 Ме/мл). Из исходного образца вирусосодержащей жидкости готовили последовательные 10-кратные разведения в 1 мл раствора Хэнкса с антибиотиками. Препарат ОСО оспенной вакцины готовили согласно инструкции по применению. В РКЭ вводили с помощью автоматической пипетки через отверстие в скорлупе по 100 мкл приготовленных разведений ГЛФ вакцины VACΔ6 и ОСО оспенной вакцины на предварительно отслоенную ХАО. Обработанные таким способом РКЭ инкубировали при температуре 37 °С и относительной влажности 80–90% в течение 3 суток. По завершении срока инкубации исследовали ХАО на наличие оспин (оспинообразующих единиц,

Таблица 1. Стабильность производственного штамма VACΔ6 при хранении в условиях 2–8 °С
Table 1. Stability of the production strain VACΔ6 when stored at 2–8 °C

Срок хранения, месяц Shelf life, month	Специфическая активность производственного штамма вируса осповакцины VACΔ6, БОЕ ± станд. отклонение/ампула Specific activity of the production strain of the vaccinia virus VACΔ6, PFU ± standard. deviation/ampoule
1	$(8,39 \pm 1,04) \times 10^6$
5	$(1,43 \pm 0,01) \times 10^7$
7	$(9,20 \pm 1,13) \times 10^6$
9	$(8,08 \pm 0,11) \times 10^6$
12	$(1,16 \pm 0,04) \times 10^7$
19	$(8,55 \pm 1,49) \times 10^6$
21	$(7,18 \pm 1,31) \times 10^6$
25	$(9,93 \pm 0,87) \times 10^6$
27	$(7,26 \pm 2,73) \times 10^6$
30	$(8,71 \pm 2,20) \times 10^6$
33	$(9,81 \pm 3,45) \times 10^6$
36	$(9,82 \pm 0,53) \times 10^6$
39	$(9,75 \pm 0,50) \times 10^6$
42	$(1,13 \pm 0,34) \times 10^7$
45	$(1,37 \pm 0,15) \times 10^7$
48	$(1,25 \pm 0,26) \times 10^7$
51	$(6,42 \pm 0,58) \times 10^6$
54	$(1,11 \pm 0,16) \times 10^7$
57	$(1,39 \pm 0,09) \times 10^7$
60	$(9,75 \pm 0,25) \times 10^6$
63	$(6,03 \pm 0,13) \times 10^6$

ООЕ), вызванных ВОВ, подсчитывали их количества. Морфология оспин на ХАО РКЭ для VACΔ6 и ОСО оспенной вакцины была одинакова.

Концентрация ВОВ составила для серий ГЛФ VACΔ6 01-05.17 – $1,0 \pm 0,3 \times 10^7$ ООЕ/ампула, 02-05.17 – $0,9 \pm 0,3 \times 10^7$ ООЕ/ампула и 03-05.17 – $1,0 \pm 0,6 \times 10^7$ ООЕ/ампула.

Концентрация ВОВ в ОСО оспенной вакцины составила $4,8 \pm 1,1 \times 10^8$ ООЕ/ампула.

Безвредность серий ГЛФ вакцины VACΔ6

При изучении аномальной токсичности в течение всего срока наблюдения не выявлено гибели, заболеваний, уменьшения массы тела, развития некроза или абсцесса ни у одного животного, что свидетельствует об отсутствии аномальной токсичности у исследуемых серий вакцины VACΔ6.

В тесте пирогенности на трёх кроликах для каждой серии ГЛФ определяли максимальное изменение температуры тела для каждого из кроликов по сравнению с исходным значением. Индивидуальное повышение температуры ни у одного из кроликов не превысило $0,4$ °С, что свидетельствует об отсутствии пирогенных свойств у вакцины VACΔ6.

Нейровирулентные свойства вакцинного штамма VACΔ6 при интрацеребральном введении мышам-сосункам

При оспопрививании классической живой вакциной многообразные формы осложнений можно объединить в три большие группы: неврологические, кожные и соматические [1]. Поскольку к наиболее тяжёлым побочным реакциям при иммунизации классической живой оспенной вакциной относятся неврологические осложнения, важно проводить оценку нейровирулентности созданного вакцинного штамма VACΔ6. Наиболее чувствительным тестом нейровирулентности ВОВ является интрацеребральное инфицирование мышей-сосунков [16].

Трёх группам мышей-сосунков линии BALB/c по 10 животных интрацеребрально вводили по 10 мкл вакцинного штамма VACΔ6 ВОВ в дозе 10^2 БОЕ/мышь. В качестве препарата сравнения использовали ОСО оспенной вакцины в такой же дозе. Через трое суток после введения вируса трёх мышей из каждой группы подвергли эвтаназии методом цервикальной дислокации, стерильно извлекали пробы головного мозга, помещали в пробирку и хранили при минус 80 °С до титрования. Непосредственно перед титрованием пробы размораживали, гомогенизировали с последующим приготовлением 10% тканевой суспензии на среде DMEM, затем после трёх актов замораживания-оттаивания проводили обработку на ультразвуковом дезинтеграторе и осветление полученного гомогената центрифугированием (5000 об./мин., 10 мин., 4 °С). В полученных супернатантах определяли концентрации вирусов

титрованием методом бляшек в монослое культуры клеток 4647 [18].

За оставшимися мышами (7 животных/группа) наблюдали в течение двух недель, учитывая количество выживших и погибших животных. В трёх независимых группах мышей, инфицированных VACΔ6 ВОВ, были выявлены сравнимые показатели нейровирулентности, и выжило 40–50% мышей, в то время как для ОСО оспенной вакцины в той же дозе наблюдалась полная гибель животных (рис. 1). Полученные результаты согласуются со среднегеометрическими значениями вирусной нагрузки в мозге мышей на третьи сутки после инфицирования (рис. 2).

Таким образом, выполненные эксперименты показали значительно сниженную нейровирулентность вакцины четвёртого поколения VACΔ6 по сравнению с классической оспенной живой вакциной первого поколения, разрешённой для использования в России.

Воспалительно-некротические свойства ГЛФ вакцины VACΔ6 при внутрикожном введении кроликам

Осложнения с поражением кожи после противооспенной вакцинации являются важным параметром, который необходимо контролировать при разработке новых поколений безопасных вакцин на основе ВОВ. Испытание трёх серий ГЛФ вакцины VACΔ6 (01-05.17, 02-05.17 и 03-05.17) проводили на шести белокожих кроликах породы Шиншилла массой от 2,5 до 3,5 кг. На предварительно депилированных участках кожи боковой поверхности тела кроликов площадью около 5 см² внутрикожно вводили по 100 мкл вакцины в разведениях 10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} . Для разведения использовали 0,9% раствор натрия хлорида. На симметричные участки боковой поверхности тела животных аналогично испытываемому образцу наносили разведения ОСО оспенной вакцины.

Через пять суток у животных обеих групп визуально оценивали образование в местах инъекции типичных вакцинальных поражений (папула, везикула, оспина). Было показано (табл. 2), что в местах введения разведений серий ГЛФ VACΔ6 образуются поствакцинальные поражения, аналогичные вызываемым введением разведений ОСО оспенной вакцины, но они менее интенсивны и имеют меньшие размеры, чем поражения, вызываемые ОСО оспенной вакцины, что указывает на снижение воспалительно-некротических свойств вакцины VACΔ6 относительно классической вакцины оспенной живой.

Иммуногенность вакцины VACΔ6 при внутрикожном введении кроликам

При массовой вакцинации важное значение имеют выбор оптимальной минимальной дозы и схемы введения вакцины для достижения долговременного иммунитета против соответствующего

Рисунок 1. Динамика гибели мышей-сосунков, интрацеребрально инфицированных вакцинным штаммом VACΔ6 BOB (группы VACΔ6-1, VACΔ6-2, VACΔ6-3) в сравнении с ОСО оспенной вакцины в дозе 10² БОЕ/мышь
Figure 1. Changes in the death rate in newborn mice intracerebrally inoculated with the VACΔ6 VACV vaccine strain (VACΔ6-1, VACΔ6-2, VACΔ6-3 groups) in comparison with the branch standard sample (BSS) of smallpox vaccine at a dose of 10² PFU/mouse

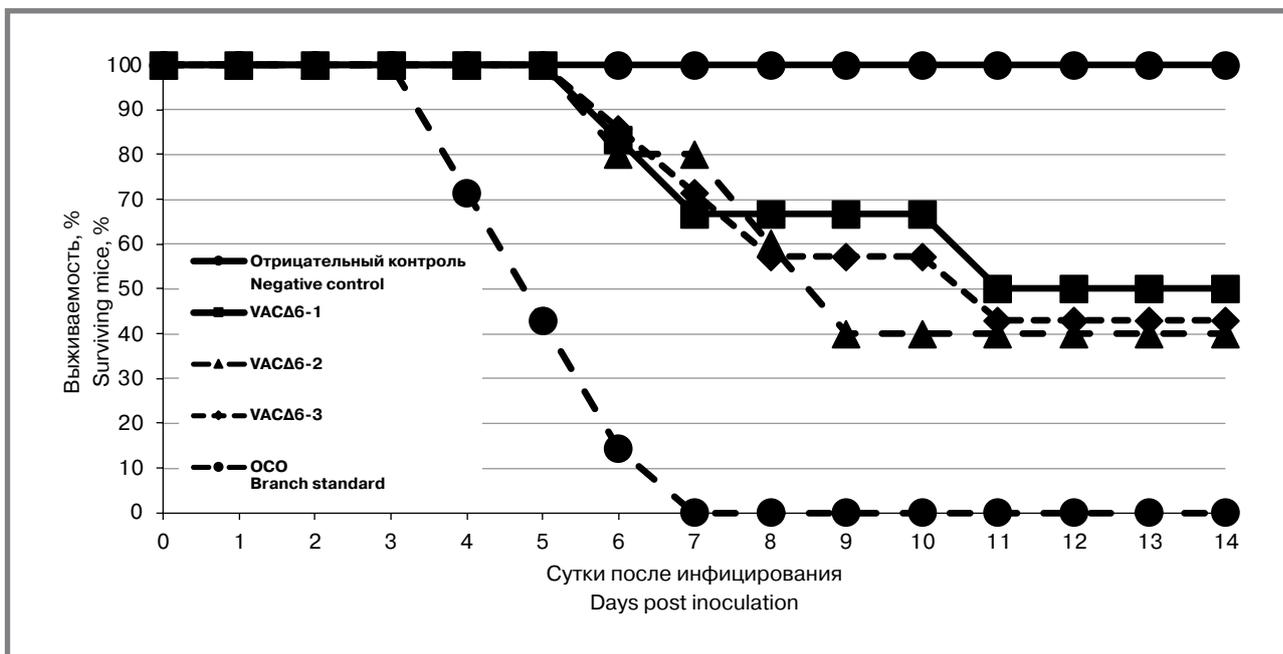
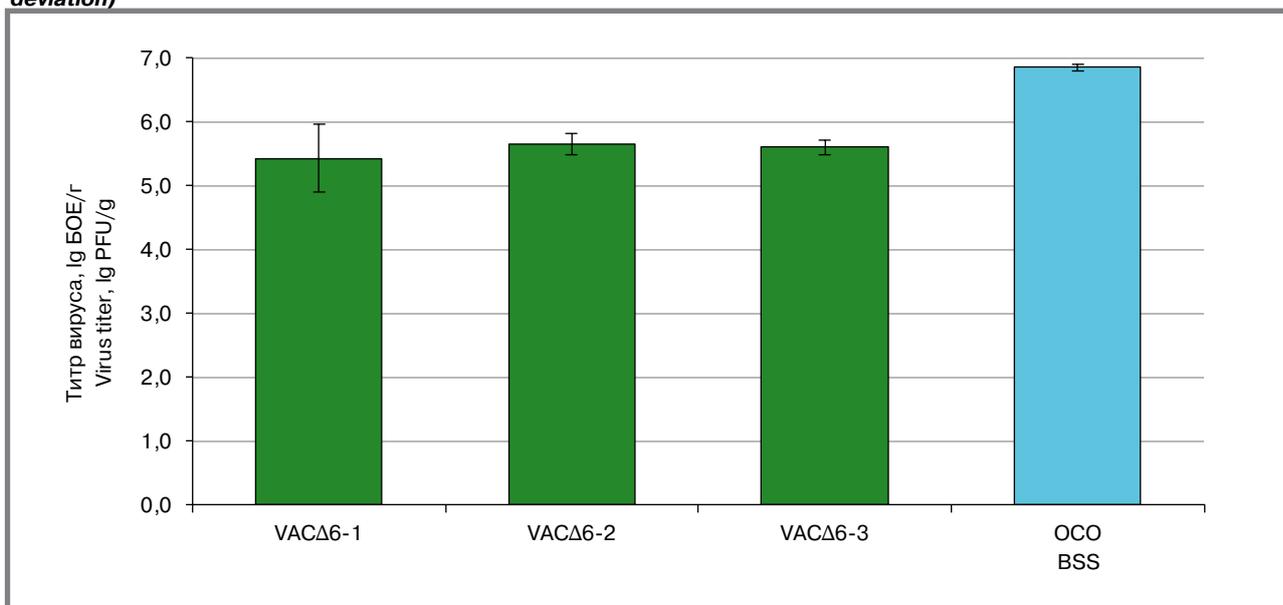


Рисунок 2. Среднегеометрические значения титров ВОВ в мозге мышей-сосунков на третьи сутки после интрацеребрального заражения вакцинным штаммом VACΔ6 (группы VACΔ6-1, VACΔ6-2, VACΔ6-3) в дозе 10² БОЕ/мл в сравнении с инфекцией в той же дозе ОСО оспенной вакцины (данные приведены в виде среднего значения log₁₀ БОЕ/г органа ± стандартное отклонение)

Figure 2. Geometric mean values of VACV titers in the brain of newborn mice on day 3 after intracerebral inoculation with the VACΔ6 vaccine strain (VACΔ6-1, VACΔ6-2, VACΔ6-3 groups) at a dose of 10² PFU/ml in comparison with infection of the smallpox vaccine branch standard sample (BSS) at the same dose (data reported as mean log₁₀ PFU/g organ ± standard deviation)



инфекционного агента. На модели кроликов нами проведено сравнение уровней ВОВ-специфичных вируснейтрализующих антител на 42-е сутки, 6-й и 12-й месяцы после однократной внутрикожной инъекции вакцины VACΔ6 в дозе 10⁷ БОЕ или двукратной внутрикожной инъекции с интервалом

21 сутки в дозе 10⁶ БОЕ. В качестве контроля сравнения использовали препарат ОСО оспенной вакцины. Содержимое ампулы ОСО растворяли в 2 мл растворителя для оспенной вакцины. 0,1 мл полученного препарата вакцины с помощью автоматической пипетки наносили на предварительно

Таблица 2. Данные изучения воспалительно-некротической активности ГЛФ вакцины VACΔ6 ВОВ и ОСО оспенной вакцины у кроликов

Table 2. Data on the study of inflammatory-necrotic activity of the FDF of the vaccine VACΔ6 and the branch standard sample (BSS) of smallpox vaccine in rabbits

Доза (ООЕ/животное) Dose (PFU/animal)	Характер/размер (мм) элементов специфической сыпи в месте инъекции Type/size (mm) of specific rash elements at the injection site			
	Кролик № 1 Rabbit No. 1		Кролик № 2 Rabbit No. 2	
	VACΔ6-01-05.17	ОСО BSS	VACΔ6-01-05.17	ОСО BSS
10 ³	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3
10 ⁴	оспина/2 pustule/2	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3	папула papula	оспина/3 x 5 pustule/3 x 5
10 ⁵	оспина/2 pustule/2	оспина/5 x 6 pustule/5 x 6	оспина/2 pustule/2	оспина/3 x 5 pustule/3 x 5
	Кролик № 3 Rabbit No. 3		Кролик № 4 Rabbit No. 4	
	VACΔ6-02-05.17	ОСО BSS	VACΔ6-02-05.17	ОСО BSS
10 ³	папула papula	оспина/2 x 3 pustule	папула papula	оспина/1 x 3 pustule/1 x 3
10 ⁴	оспина/1 x 2 pustule/1 x 2	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3	папула papula	оспина/3 x 4 pustule/3 x 4
10 ⁵	оспина/1 x 3 pustule/1 x 3	оспина/5 pustule/5	папула papula	оспина/10 pustule/10
	Кролик № 5 Rabbit No.5		Кролик № 6 Rabbit No.6	
	VACΔ6-03-05.17	ОСО BSS	VACΔ6-03-05.17	ОСО BSS
10 ³	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3
10 ⁴	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3	папула papula	оспина/2 x 3 pustule/2 x 3
10 ⁵	четыре оспины four pustules	много сливных оспин confluent pustules	везикула/1 vesicle/1	оспина/2 x 4 pustule/2 x 4

подготовленный участок депилированной кожи кролика одной каплей. В месте нанесения вакцины (сквозь каплю) стерильным медицинским скарификатором делали одиночный некровотокающий надрез (царапину) длиной 0,5 см и втирали вакцину в место надреза плоской стороной того же скарификатора. При этом вакцинирующая доза была не менее 10⁷ БОЕ.

Результаты этих экспериментов, представленные на рисунке 3, показали, что двукратная иммунизация кроликов вакциной VACΔ6 в дозе 10⁶ БОЕ обеспечивает более напряжённый иммунный ответ в течение длительного времени по сравнению с однократной внутрикожной инъекцией вакцины в дозе 10⁷ БОЕ. При этом уровень вируснейтрализующих антител, индуцируемых разработанной аттенуированной вакциной VACΔ6, не имел достоверных отличий от аналогичного показателя для ОСО оспенной вакцины.

Важным тестом на соответствие по иммуногенности новой вакцины VACΔ6 классической

противооспенной вакцине первого поколения является сравнение уровней вируснейтрализующих антител, синтезированных в организме иммунизированных кроликов, относительно ВНО [17]. Результаты таких исследований с использованием штаммов ВНО Ind-3а и Butler, представленные на рисунке 4, показывают, что живая аттенуированная вакцина четвёртого поколения VACΔ6 после двукратной иммунизации кроликов в дозе 10⁶ БОЕ индуцирует ВНО-нейтрализующие антитела на уровне, характерном для Вакцины оспенной живой первого поколения.

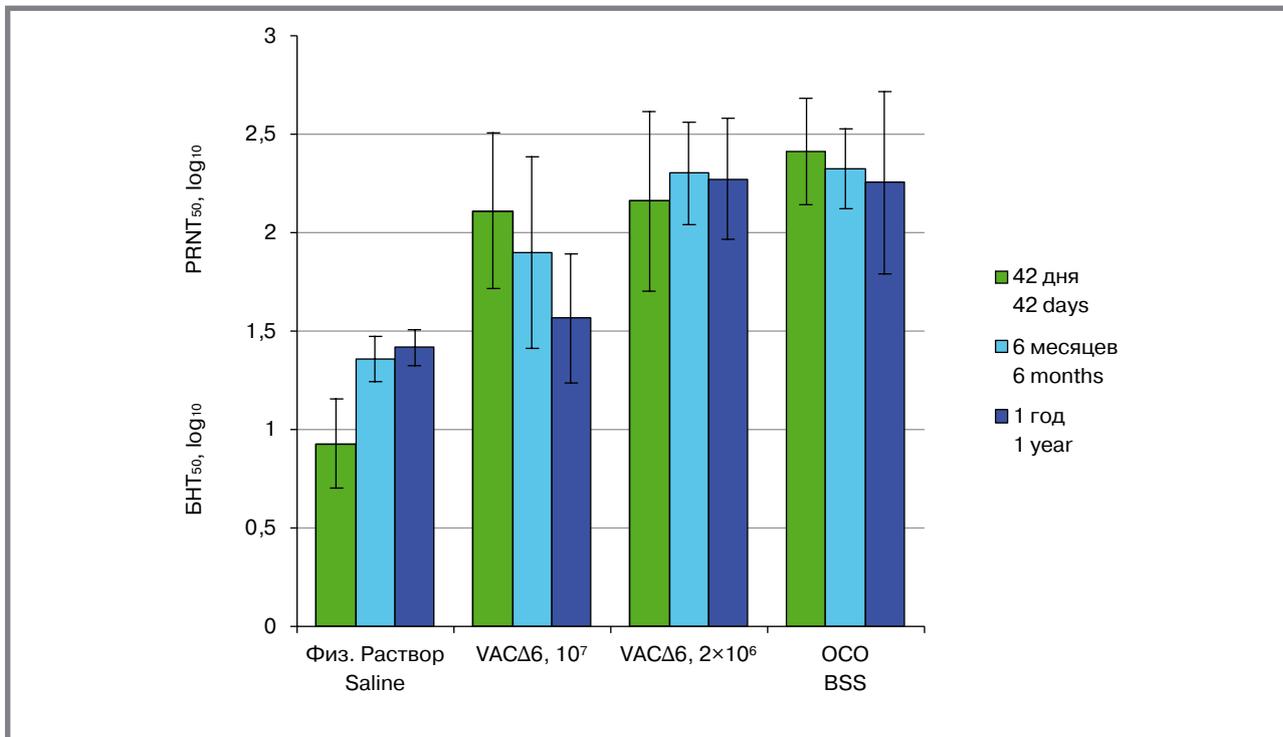
Изучение защитной эффективности серий ГЛФ вакцины VACΔ6 на мышах

Для изучения протективного иммунного ответа самок мышей линии BALB/c с массой тела 15–18 г дважды внутрикожно иммунизировали сериями ГЛФ вакцины VACΔ6 (с интервалом 21 сутки между иммунизациями; по 8 животных на серию) в дозе

Рисунок 3. Обратные титры антител, нейтрализующих образование 50% бляшек (БНТ₅₀) ВОВ LIVP на культуре клеток Vero, после иммунизации кроликов вакциной VACΔ6 однократно в дозе 10⁷ или двукратно в дозе 10⁶ БОЕ, а также ОСО оспенной вакцины в дозе 10⁷ БОЕ

Указано время взятия сывороток крови после начала иммунизации

Figure 3. Reciprocal geometric mean titers of antibodies neutralizing the formation of 50% plaques (PRNT₅₀) of VACV LIVP in a Vero cell culture, after immunization of rabbits with the VACΔ6 vaccine once at a dose of 10⁷ or twice at a dose of 10⁶ PFU, as well as the branch standard sample (BSS) of smallpox vaccine at a dose of 10⁷ PFU. The time of blood serum sampling after the start of immunization is indicated



10⁶ ООЕ/животное. При этом каждому животному вводили 0,01 мл (1 доза) вакцины из ампулы, содержимое которой предварительно восстанавливали в 0,1 мл физиологического раствора (по 2 ампулы каждой серии на обе вакцинации). Контрольную группу (8 животных) иммунизировали двукратно внутрикожно в дозе 10⁶ ООЕ/0,01 мл/животное препаратом ОСО оспенной вакцины. Группу отрицательного контроля (12 животных) составили интактные мыши.

Для определения уровня защиты вакцинированных животных использовали интраназальную инокуляцию летального для мышей штамма К1 ВЭ. Для определения ЛД₅₀ разрешающего вируса использовали самок мышей линии BALB/с с массой тела 21–23 г, которым после предварительной наркотизации диэтиловым эфиром интраназально вводили десятикратные разведения ВЭ в дозе от 3 × 10¹ до 3 × 10⁵ БОЕ/0,03 мл/животное, используя по 10 животных на разведение вируса. После заражения животных в течение 21 суток учитывали их гибель, исключая погибших в первые двое суток, как умерших от манипуляций. Величина ЛД₅₀ для ВЭ составила 1,3 lg БОЕ/животное.

Через 21 сутки после второго введения вакцины животных интраназально заражали десятикратными разведениями препарата штамма К1 ВЭ в объеме 0,03 мл, используя по 4 животных на дозу, после предварительной наркотизации их парами

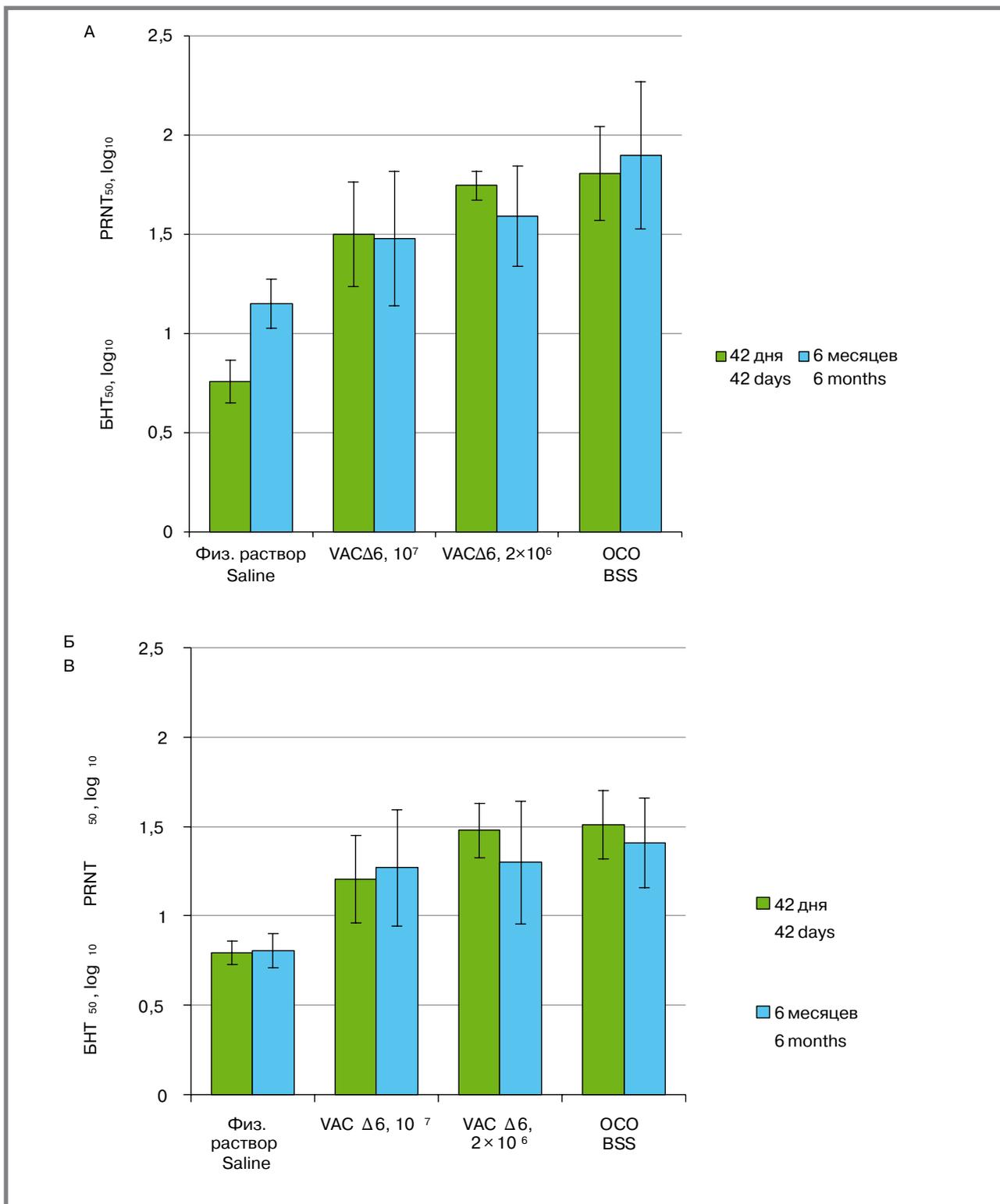
диэтилового эфира. После инфицирования мышей регистрировали их гибель в группах в течение 21 суток. Результаты этого эксперимента (табл. 3) показали, что двукратное внутрикожное введение VACΔ6 в дозе 10⁶ ООЕ/мышь для всех трех серий ГЛФ обеспечивает 100% защитный эффект против интраназального инфицирования мышей штаммом К1 ВЭ в дозе 56ЛД₅₀ (3,05 lg БОЕ), демонстрируя протективные свойства на уровне ОСО оспенной вакцины.

Кроме того, на 19-е сутки после второй иммунизации тремя сериями исследуемой вакцины проводили оценку гуморального иммунного ответа. Для этого у всех животных, предварительно наркотизированных диэтиловым эфиром, прижизненно забирали образцы крови из ретроорбитального венозного синуса, из которых после формирования фибринового сгустка и последующего центрифугирования отбирали сыворотки, в которых после тепловой обработки определяли титры ВОВ-нейтрализующих антител на культуре клеток 4647.

Оценку титров противооспенных антител проводили в реакции нейтрализации с применением штамма Л-ИВП ВОВ по ранее описанному методу [23], используя последовательные пятикратные разведения исследуемых сывороток, которые смешивали с рабочим разведением ВОВ (50 БОЕ/лунка). Полученную смесь инкубировали в течение 1 ч. при 37 °С, после чего наносили на монослой культуры клеток 4647, предварительно выращенный

Рисунок 4. Обратные титры антител, нейтрализующих образование 50% бляшек (БНТ₅₀) ВНО штаммы Ind-3a (А) или Butler (Б) на культуре клеток Vero, после иммунизации кроликов вакциной VACΔ6 однократно в дозе 10⁷ или двукратно в дозе 10⁶ БОЕ, а также ОСО осенней вакцины в дозе 10⁷ БОЕ. Указано время взятия сывороток крови после начала иммунизации

Figure 4. Reciprocal geometric mean titers of antibodies neutralizing the formation of 50% plaques (PRNT₅₀) of VARV strains Ind-3a (A) or Butler (B) in a Vero cell culture, after immunization of rabbits with the VACΔ6 vaccine once at a dose of 10⁷ or twice at a dose of 10⁶ PFU, as well as the branch standard sample (BSS) of smallpox vaccine at a dose of 10⁷ PFU. The time of blood serum sampling after the start of immunization is indicated



в 24-луночных культуральных планшетах. Титр сыворотки, подавляющий образование 50% БОЕ ВОВ по сравнению с количеством БОЕ в лунках

с неиммунной сывороткой, рассчитывали по методу Спирмена-Кербера [24] и выражали в виде 50% бляшкоподавляющего нейтрализующего титра

Original Articles

Таблица 3. Защитная эффективность серий ГЛФ вакцины VACΔ6 и ОСО оспенной вакцины у мышей линии BALB/c, интраназально инфицированных летальными дозами ВЭ штамм К1

Table 3. Protective efficacy of VACΔ6 series of FDF vaccine and BSS of smallpox vaccine in BALB/c mice intranasally infected with lethal doses of ECTV K1 strain

Доза ВЭ, Ig БОЕ/ животное Dose of ECTV, Ig PFU/animal	Количество погибших/заражённых мышей Number of dead/infected mice				
	Серия ГЛФ вакцины VACΔ6 Series of FDF vaccine VACΔ6			ОСО BSS	Физ. Раствор Saline
	01-05.17	02-05.17	03-05.17		
1,05	-	-	-	-	2/4
2,05	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4
3,05	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4

Таблица 4. Уровень гуморального иммунного ответа у мышей после двукратной внутрикожной вакцинации сериями ГЛФ вакцины VACΔ6 или ОСО оспенной вакцины

Table 4. The level of humoral immune response in mice after double intradermal vaccination with a series of FDF vaccine VACΔ6 or BSS smallpox vaccine

Показатель Indicator	Значения показателей гуморального иммунного ответа у мышей на 19 сут после двукратной вакцинации Values of humoral immune response indicators in mice on day 19 after double vaccination			
	Серия ГЛФ вакцины VACΔ6 Series of FDF vaccine VACΔ6			ОСО BSS
	01-05.17	02-05.17	03-05.17	
СГТ (БНТ ₅₀ /мл) GMT (PNT ₅₀ /ml)	1082	722	854	1082
I _{95мин} -I _{95макс}	677-1730	453-1150	475-1536	654-1791
Сероконверсия Seroconversion (%)	100	100	100	100

Примечание: СГТ – средний геометрический титр; БНТ₅₀ – 50% бляшкоредуцирующий нейтрализующий титр; I_{95мин}-I_{95макс} – диапазон значений с доверительной вероятностью 95%; сероконверсия – доля сывороток с титром, превышающим пороговое значение 150 БНТ₅₀/мл, измеренное для группы отрицательного контроля (при p<0,05).

Note: GMT – Geometric mean values of titers; PNT₅₀ – 50% plaque-reducing neutralizing titer; I_{95min}-I_{95max} – a range of values with a confidence probability of 95%; Seroconversion is the proportion of sera with a titer exceeding the threshold value of 150 PNT₅₀/ml, measured for the negative control group (at p<0.05).

в 1 мл сыворотки (БНТ₅₀/мл). Для групп образцов сывороток рассчитывали значение среднего геометрического титров противооспенных антител. Результаты исследования приведены в таблице 4.

Проведённые исследования показали, что уровни ВОВ-нейтрализующих антител в периферической

крови животных, вакцинированных испытуемыми сериями ГЛФ вакцины VACΔ6, не имели достоверных отличий от аналогичных показателей в группе, иммунизированной ОСО оспенной вакцины.

На основании полученных результатов можно заключить, что двукратная внутрикожная

Таблица 5. Протективность серий ГЛФ вакцины VACΔ6 и ОСО оспенной вакцины у кроликов, интраназально инфицированных летальными дозами ВОВ штамма НВ-92

Table 5. Protective efficacy of VACΔ6 series of FDF vaccine and BSS of smallpox vaccine in rabbits intranasally infected with lethal doses of VACV NB-92 strain

Доза ВОВ, Ig БОЕ/животное Dose of VACV, Ig PFU/animal	Количество погибших/заражённых кроликов Number of dead/infected rabbits				
	Серия ГЛФ вакцины VACΔ6 Series of FDF vaccine VACΔ6			ОСО BSS	Физ. Раствор Saline
	01-05.17	02-05.17	03-05.17		
1,9	-	-	-	-	3/4
2,9	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4
3,9	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4
4,9	0/4	0/4	0/4	0/4	-

Таблица 6. Уровень гуморального иммунного ответа у кроликов после двукратной внутрикожной вакцинации ГЛФ вакцины VACΔ6

Table 6. The level of humoral immune response in rabbits after double intradermal vaccination with a series of FDF vaccine VACΔ6 or BSS smallpox vaccine

Показатель Indicator	Значения показателей гуморального иммунного ответа у кроликов на 21 сут после двукратной вакцинации Values of humoral immune response indicators in rabbits on day21 after double vaccination			
	Серия ГЛФ вакцины VACΔ6 Series of FDF vaccine VACΔ6			ОСО BSS
	01-05.17	02-05.17	03-05.17	
СГТ (БНТ ₅₀ /мл) GMT (PNT ₅₀ /ml)	820	802	780	827
I _{95мин} -I _{95макс}	634-1006	586-1018	402-1158	695-959
Сероконверсия (Seroconversion (%))	100	100	100	100

Примечание: СГТ – среднее геометрическое титров; БНТ₅₀ – 50% бляшкоредуцирующий нейтрализующий титр; I_{95мин}-I_{95макс} – диапазон значений с доверительной вероятностью 95%; сероконверсия – доля сывороток с титром, превышающим пороговое значение 150 БНТ₅₀/мл, измеренное для группы отрицательного контроля (при p < 0,05).

Note: GMT – Geometric mean values of titers; PNT₅₀ – 50% plaque-reducing neutralizing titer;

I_{95min}-I_{95max} – a range of values with a confidence probability of 95%; Seroconversion is the proportion of sera with a titer exceeding the threshold value of 150 PNT₅₀/ml, measured for the negative control group (at p < 0.05).

вакцинация ГЛФ вакцины VACΔ6 в дозе 10⁶ ООЕ/мышь обеспечивает 100% защитный эффект против интраназального инфицирования мышей штаммом К1 ВЭ в дозе 56 ЛД₅₀, демонстрируя протективные свойства на уровне противооспенной вакцины первого поколения.

Изучение эффективности серий ГЛФ вакцины VACΔ6 на кроликах

Изучение протективного иммунного ответа проводили на кроликах породы Шиншилла массой от 2,5 до 3,5 кг (12 животных на серию ГЛФ). Животных дважды внутрикожно иммунизировали ГЛФ вакцины VACΔ6 в дозе 10⁶ ООЕ/0,05 мл с интервалом 21 сутки между иммунизациями. Контрольную группу (12 кроликов) иммунизировали ОСО оспенной вакцины двукратно внутрикожно в дозе 10⁶ ООЕ/животное в объеме 0,05 мл. Группе отрицательного контроля (12 кроликов) дважды внутрикожно вводили физиологический раствор в объеме 0,05 мл с интервалом 21 сутки. Через 20 суток после второго введения у всех животных отбирали образцы крови из краевой вены уха для получения сыворотки (как описано выше при изучении эффективности серий вакцины на мышинной модели) с последующим определением титров противооспенных антител в реакции нейтрализации на культуре клеток 4647.

Для определения уровня защиты вакцинированных животных использовали интраназальную инокуляцию летального для кроликов штамма НВ-92 ВОВ. Величина ЛД₅₀ в эксперименте для штамма НВ-92 составила 1,6 г БОЕ/животное.

Через 21 сутки после второго введения вакцины животных интраназально заражали разными дозами ВОВ штамм НВ-92 в объеме 1,0 мл, используя по 4 животных на дозу, после предварительной наркотизации животных парами диэтилового

эфира. После заражения кроликов регистрировали их гибель в группах в течение 21 суток. Результаты эксперимента, представленные в таблице 5, позволяют заключить, что двукратная внутрикожная вакцинация ГЛФ вакцины VACΔ6 в дозе 10⁶ ООЕ/кролик обеспечивает 100% защитный эффект против интраназального инфицирования кроликов штаммом НВ-92 ВОВ в дозе 1995 ЛД₅₀, демонстрируя протективные свойства на уровне противооспенной вакцины первого поколения.

На 21-е сутки после второй иммунизации кроликов оценивали уровень гуморального иммунного ответа. Оценку титров противооспенных антител в сыворотках крови животных проводили в реакции нейтрализации с применением штамма Л-ИВП ВОВ. Разведения исследуемой сыворотки смешивали с рабочим разведением ВОВ, содержащим 400–600 БОЕ/мл. Полученную смесь инкубировали в течение 1 ч. при 37 °С, после чего наносили на монослой культуры клеток 4647, предварительно выращенный в 24-луночных культуральных планшетах. Титр сыворотки, подавляющий образование 50% БОЕ по сравнению с количеством БОЕ в контрольных лунках, рассчитывали по методу Спирмена-Кербера [24] и выражали в виде 50% бляшкоподавляющего нейтрализующего титра в 1 мл сыворотки (БНТ₅₀/мл). Для групп образцов сывороток рассчитывали средний геометрический титр противооспенных антител. Результаты исследования приведены в таблице 6.

Проведенные исследования показали, что уровни нейтрализующих ВОВ антител в периферической крови кроликов, вакцинированных испытуемыми сериями ГЛФ живой противооспенной вакцины VACΔ6, не имели достоверных отличий от аналогичных показателей в группах животных, вакцинированных ОСО оспенной вакцины.

Original Articles

Заключение

Вакцинный штамм VACΔ6 ВОВ демонстрирует на модели внутримозгового введения мышам-сункам значительно уменьшенную нейровирулентность, а на модели внутрикожного введения кроликам – сниженную воспалительно-некротическую активность по сравнению с классической оспенной живой вакциной первого поколения, разрешённой для использования в России.

Доклинические исследования трёх серий ГЛФ вакцины VACΔ6 показали:

- подлинность вакцины, так как на поверхности ХАО 11-12-суточных РКЭ формируются специфические патологические образования (оспины), схожие по своей морфологии с патологическими образованиями, характерными для штамма Л-ИВП ВОВ. Показана идентичность кожных поражений, вызванных введением кроликам ГЛФ и препарата сравнения (ОСО оспенной вакцины № 42-28-113-2015);

- термостабильность;
- апирогенность;
- безвредность;
- специфическую активность (при двукратной вакцинации кроликов в дозе 10^6 ООЕ/животное), обеспечивающую 100% защитный эффект против интраназального инфицирования кроликов ВОВ штамм НВ-92 в дозе 1995 ЛД₅₀;
- специфическую активность (при двукратной вакцинации мышей в дозе 10^6 ООЕ/животное), обеспечивающую 100% защитный эффект против интраназального инфицирования мышей ВЭ штамм К1 в дозе 56 ЛД₅₀.

Таким образом, на основании проведённого комплекса исследований можно заключить, что созданная вакцина четвёртого поколения VACΔ6 является более безопасной по сравнению с Вакциной оспенной живой первого поколения и не уступает ей по иммуногенным и протективным свойствам.

Литература

1. Маренникова С. С., Щелкунов С. Н. Патогенные для человека ортопоксвирусы. М.: Товарищество научных изданий КМК, 1998. 386 с.
2. Shchelkunov S.N. Emergence and reemergence of smallpox: the need in development of a new generation smallpox vaccine. *Vaccine*. 2011;29S:D49–53.
3. Fenner F, Henderson D.A., Arita I., et al. *Smallpox and Its Eradication*. Geneva: World Health Organization; 1988.
4. Shchelkunov S.N. An increasing danger of zoonotic orthopoxvirus infections. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003756.
5. Щелкунов С. Н., Щелкунова Г. А. Нужно быть готовыми к возврату оспы. *Вопросы вирусологии*. 2019;64(5):206–14.
6. Yong S.E.F., Ng O.T., Ho Z.J.M., et al. Imported monkeypox, Singapore. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(8):1826–30.
7. Noyce R.S., Lederman S., Evans D.H. Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments. *PLoS One*. 2018;13(1):e0188453.
8. Kemper A.R., Davis M.M., Freed G.L. Expected adverse events in a mass smallpox vaccination campaign. *Eff Clin Pract*. 2002;5:84–90.
9. Якубицкий С. Н., Колосова И. В., Максюттов Р. А., Щелкунов С. Н. Высокоиммуногенный вариант аттенуированного вируса осповакцины. *Доклады Академии наук*. 2016;466(2):241–4.
10. Бектмиров Т. А. Современные концепции и принципы обеспечения качества при производстве вакцинных препаратов. – *Бюлл.: Вакцинация. Гарантия качества вакцин*. 2000; №9.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты), часть вторая. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. М., 2012 г.
12. РД 42-28-8-89. Доклинические испытания новых медицинских иммунобиологических препаратов. Основные положения. М., 1989.
13. Европейская фармакопея. 7.0. - 7-е изд. - Москва : Ремедиум, 2011.
14. Moss B. Smallpox vaccines: targets of protective immunity. *Immunol Rev*. 2011;239:8–26.
15. Tschärke D.C., Smith G.L. A model for vaccinia virus pathogenesis and immunity based on intradermal injection of mouse ear pinnae. *J Gen Virol*. 1999;80:2751–5.
16. Zhang C.X., Sauder C., Malik T., et al. A mouse-based assay for the pre-clinical neurovirulence assessment of vaccinia virus-based smallpox vaccines. *Biologicals*. 2010;38:278–83.
17. Damon I. K., Davidson W.B., Hughes C.M., et al. Evaluation of smallpox vaccines using variola neutralization. *J Gen Virol*. 2009;90:1962–6.
18. Якубицкий С. Н., Колосова И. В., Максюттов Р. А., Щелкунов С. Н. Аттенуация вируса осповакцины. *Acta Naturae*. 2015;7(4):125–34.
19. Щелкунов С. Н., Сергеев А. А., Якубицкий С. Н. и др. Оценка иммуногенности и протективности вируса осповакцины L1VP-GFP на трех видах лабораторных животных. *Инфекция и иммунитет*. 2021;11(6):1167–72.
20. Мухачева А. В., Перекрест В. В., Мовсесянц А. А. и др. Результаты переекспериментации отраслевого стандартного образца и использование его при экспертизе качества вакцин против натуральной оспы. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2016;6:70–9.
21. Перекрест В. В., Мовсесянц А. А., Мухачева А. В. и др. Препараты для специфической профилактики натуральной оспы, зарегистрированные в Российской Федерации. *Биопрепараты*. 2013;2:4–13.
22. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. 2015. М.: МЗ РФ.
23. Shchelkunov S.N., Yakubitskiy S.N., Sergeev A.A., et al. Effect of the route of administration of the vaccinia virus strain L1VP to mice on its virulence and immunogenicity. *Viruses*. 2020;12(8):795.
24. Sachs, L. *Statistische Auswertungsmethoden*; Springer: Heidelberg, Germany, 1972; 193p.

References

1. Marennikova S.S., Shchelkunov S.N. *Orthopoxviruses Pathogenic for Humans*. M.: RVR Scientific Press Ltd, 1998. 386 (In Russ.).
2. Shchelkunov S.N. Emergence and reemergence of smallpox: the need in development of a new generation smallpox vaccine. *Vaccine*. 2011;29S:D49–53.
3. Fenner F, Henderson D.A., Arita I., et al. *Smallpox and Its Eradication*. Geneva: World Health Organization; 1988.
4. Shchelkunov S.N. An increasing danger of zoonotic orthopoxvirus infections. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003756.
5. Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. We should be prepared to smallpox re-emergence. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian Journal)*. 2019;64(5):206–14 (In Russ.).
6. Yong S.E.F., Ng O.T., Ho Z.J.M., et al. Imported monkeypox, Singapore. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(8):1826–30.
7. Noyce R.S., Lederman S., Evans D.H. Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments. *PLoS One*. 2018;13(1):e0188453.
8. Kemper A.R., Davis M.M., Freed G.L. Expected adverse events in a mass smallpox vaccination campaign. *Eff Clin Pract*. 2002;5:84–90.
9. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksyutov R.A., Shchelkunov S.N. Highly immunogenic variant of attenuated vaccinia virus. *Dokl Biochem Biophys*. 2016;466:35–8 (In Russ.).
10. Bektimirov T.A. Modern concepts and principles of quality assurance in the production of vaccine preparations. *Vaccination. Vaccine Prophylaxis news. Quality assurance of vaccines*. 2000;3(9) (In Russ.).
11. Mironov AN, editor. *Guidelines for Preclinical Trials of Medicinal Products. Part 2*. Moscow: Grif i K; 2012:536 (In Russ.).
12. Preclinical testing of new medical immunobiological preparations. The main provisions. *RD 42-28-8-89*. Moscow;1989 (In Russ.).
13. *European Pharmacopoeia 7.0*. 7th Edition. M: Group Remedium, 2011 (In Russ.).
14. Moss B. Smallpox vaccines: targets of protective immunity. *Immunol Rev*. 2011;239:8–26.
15. Tschärke D.C., Smith G.L. A model for vaccinia virus pathogenesis and immunity based on intradermal injection of mouse ear pinnae. *J Gen Virol*. 1999;80:2751–5.
16. Zhang C.X., Sauder C., Malik T., et al. A mouse-based assay for the pre-clinical neurovirulence assessment of vaccinia virus-based smallpox vaccines. *Biologicals*. 2010;38:278–83.

17. Damon I. K., Davidson W.B., Hughes C.M., et al. Evaluation of smallpox vaccines using variola neutralization. *J Gen Virol.* 2009;90:1962–6.
18. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksyutov R.A., Shchelkunov S.N. Attenuation of vaccinia virus. *Acta Naturae.* 2015;7(4):125–34 (In Russ.).
19. Shchelkunov S.N., Sergeev A.A., Yakubitskiy S.N., et al. Assessing immunogenicity and protectiveness of the vaccinia virus LVP-GFP in three laboratory animal models. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021;11(6):1167–72 (In Russ.).
20. Muhacheva A.V., Perekrest V.V., Movsesyants A.A., et al. The Results of re-certification of reference standard sample used for the examination of quality smallpox vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2016;15(6):70–9 (In Russ.).
21. Perekrest V.V., Movsesyants A.A., Mukhacheva A.V., et al. Preparations for the specific prophylaxis of smallpox approved in the Russian Federation // *Biopreparation (Biopharmaceuticals).* 2013;2:4–13 (In Russ.).
22. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition 2015. M.: MH RF (In Russ.).
23. Shchelkunov S.N., Yakubitskiy S.N., Sergeev A.A., et al. Effect of the route of administration of the vaccinia virus strain LVP to mice on its virulence and immunogenicity. *Viruses.* 2020;12(8):795.
24. Sachs, L. *Statistische Auswertungsmethoden*; Springer: Heidelberg, Germany, 1972; 193p.

Об авторах

- **Сергей Николаевич Щелкунов** – д. б. н., профессор, г. н. с. ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (903) 939-94-80, snshchel@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-6255-9745.
- **Станислав Николаевич Якубицкий** – м. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (923) 241-07-26, yakubizkiy@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-0496-390X.
- **Андрей Егорович Нестеров** – с. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (962) 825-21-10, nesterov_ae@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0001-7943-3287.
- **Ирина Валерьевна Колосова** – к. б. н., с. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 23-51. kolosova_iv@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0003-2317-4153.
- **Александр Александрович Сергеев** – к. м. н., в. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 22-31, sergeev_ala@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-8355-5551.
- **Анна Владимировна Зайковская** – к. б. н., с. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-10, zaykovskaya_av@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-0450-5212.
- **Алексей Сергеевич Кабанов** – к. б. н., с. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (913) 716-20-92, kabanov@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-6287-0912.
- **Елена Августовна Нечаева** – к. м. н., заместитель генерального директора по научной и производственной работе, зав. отделом клеточных технологий, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 28-33, nechaeva@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-7118-5749.
- **Марина Поликарповна Богрянцева** – к. б. н., заведующая отделом биологического и технологического контроля ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 28-37, bogryantseva@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0003-0467-5024.
- **Светлана Владимировна Усова** – к. м. н., в. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 29-93, usova_sv@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-5059-2778.
- **Наталья Сергеевна Куцерубова** – н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 20-27, ekutserubova_ns@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-5089-2225.
- **Татьяна Владимировна Трегубчак** – в. н. с., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 23-09, tregubchak_tv@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-9608-2044.
- **Елена Васильевна Гаврилова** – к. б. н., заместитель генерального директора по научной работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 363-47-00, доп. 12-12, gavrilova_ev@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-7118-5749.
- **Ринат Амирович Максютов** – д. б. н., генеральный директор ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (383) 336-60-10, maksyutov_ra@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0003-1314-281X.

Поступила: 30.03.2022. Принята к печати: 15.11.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Sergei N. Shchelkunov** – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Principal Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (903) 939-94-80, snshchel@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-6255-9745.
- **Stanislav N. Yakubitskiy** – Junior Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (923) 241-07-26, yakubizkiy@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-0496-390X.
- **Andrey E. Nesterov** – Senior Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (962) 825-21-10, nesterov_ae@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0001-7943-3287.
- **Irina V. Kolosova** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 23-51, kolosova_iv@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0003-2317-4153.
- **Alexandr A. Sergeev** – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 22-31, sergeev_ala@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-8355-5551.
- **Anna V. Zaykovskaya** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-10, zaykovskaya_av@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-0450-5212.
- **Alexey S. Kabanov** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (913) 716-20-92, kabanov@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-6287-0912.
- **Elena A. Nechaeva** – Cand. Sci. (Med.), Deputy Director, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 28-33, nechaeva@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-7118-5749.
- **Marina P. Bogryantseva** – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Biological and Technology Supervision Department, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 28-37, bogryantseva@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0003-0467-5024.
- **Svetlana V. Usova** – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 29-93, usova_sv@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-5059-2778.
- **Natalia S. Kutserubova** – Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 20-27, kutserubova_ns@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0002-5089-2225.
- **Tatyana V. Tregubchak** – Leading Researcher, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 23-09, tregubchak_tv@vector.nsc.ru. ORCID 0000-0001-9608-2044.
- **Elena V. Gavrilova** – Cand. Sci. (Biol.), Deputy Director for Academic Affairs, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 363-47-00, add. 12-12, gavrilova_ev@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-7118-5749.
- **Rinat A. Maksyutov** – ScD, Director General, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор. +7 (383) 336-60-10, maksyutov_ra@vector.nsc.ru. ORCID: 0000-0003-1314-281X.

Received: 30.03.2022. Accepted: 15.11.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Многолетняя динамика смертности ВИЧ-инфицированных и факторы риска летального исхода при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза

В. И. Сергевнин¹, О. В. Тукачёва*², О. Е. Микова², М. В. Рожкова²

¹ ФГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ, г. Пермь

² ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», г. Пермь

Резюме

Актуальность. Смертность больных ВИЧ-инфекцией, в том числе сочетанной с туберкулёзом (ВИЧ/ТБ), продолжает нарастать. **Цель.** Изучить многолетнюю динамику смертности ВИЧ-инфицированных и факторы риска летального исхода при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза. **Материалы и методы.** Проведена оценка показателей смертности ВИЧ-инфицированных среди населения Пермского края с 2005 г. (год регистрации первых случаев ВИЧ/ТБ) по 2021 г. С целью установления продолжительности сроков жизни пациентов и факторов риска летального исхода проведён анализ 414 амбулаторных карт ВИЧ-инфицированных, умерших в 2021 г. Степень иммунодефицита и вирусной нагрузки у больных была учтена по результатам обследований, проведённых в период 6 месяцев до летального исхода. **Результаты.** За 15-летний период регистрации заболеваемости ВИЧ/ТБ на изучаемой территории среди умерших от причин, непосредственно связанных с ВИЧ-инфекцией, 57,0% были больны ТБ. При этом, несмотря на снижение смертности от монотуберкулёзной инфекции в результате снижения заболеваемости ТБ, в последние годы отмечен рост смертности от ВИЧ/ТБ вследствие активизации эпидемического процесса ВИЧ-инфекции. Средняя продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных, умерших непосредственно от ВИЧ-инфекции, при отсутствии ТБ составила $6,7 \pm 0,3$ года, при сопутствующем ТБ – $5,7 \pm 0,3$ года. Летальный исход больных ВИЧ-инфекцией при наличии ТБ и без ТБ наиболее часто регистрировался при количестве CD4+ менее 200 клеток/мл и вирусной нагрузке более 100 000 копий/мл РНК ВИЧ. При этом иммуносупрессия у умерших больных ВИЧ/ТБ была более выраженной, чем у ВИЧ-инфицированных при отсутствии ТБ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфицированные, сопутствующий туберкулёз, многолетняя динамика смертности, причины и факторы риска летального исхода

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Сергевнин В. И., Тукачёва О. В., Микова О. Е. и др. Многолетняя динамика смертности ВИЧ-инфицированных и факторы риска летального исхода при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6): 48–58. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-48-58>

Long-Term Dynamics of HIV-Infected Mortality and Risk Factors of the Lethal Outcome in the Presence and Absence of Concomitant Tuberculosis

VI Sergevnin¹, OV Tukacheva**², OE Mikova², MV Rozhkova²

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

² Perm Regional Center for AIDS and infectious diseases Control and Prevention, Perm, Russia

Abstract

Relevance. The mortality rate of patients with HIV infection, including concomitant tuberculosis (HIV/TB), continues to increase. The goal of the work is to study the long-term dynamics of HIV-infected mortality and risk factors of the lethal outcome in the presence and absence of concomitant tuberculosis. **Materials and methods.** An assessment of the mortality rates of HIV-infected people among the population of the Perm Region during the period from 2005 (the year of registration of the first cases of HIV/TB) to 2021 was carried out. In order to determine the life expectancy of patients and risk factors of the lethal outcome the analysis of 414 outpatient records of HIV-infected people who died in 2021 was carried out. The degree of immunodeficiency and viral

* Для переписки: Тукачёва Ольга Владимировна, врач-эпидемиолог ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», 614088, г. Пермь, ул. Связьева, 21. +7 (950) 448-63-42, olga_tukacheva@mail.ru. ©Сергевнин В. И. и др.
** For correspondence: Tukacheva Olga V., epidemiologist, Perm Regional Center for AIDS and infectious diseases Control and Prevention, 21, Sviyazeva St., Perm, 614088, Russia. +7 (950) 448-63-42, olga_tukacheva@mail.ru. ©Sergevnin VI, et al.

load in patients was taken into account based on the results of examinations conducted in the period 6 months before the lethal outcome. **Results.** During the 15-year period of registration of the incidence of HIV/TB in the study area, 57.0% of those who died from causes directly related to HIV infection had TB. At the same time, despite the decrease in mortality from monotuberculous infection as a result of a decrease in the incidence of TB, in recent years there has been an increase in mortality from HIV/TB due to the intensification of the epidemic process of HIV infection. The average life expectancy of HIV-infected people who died directly from HIV infection in the absence of TB was 6.7 ± 0.3 years, with concomitant TB - 5.7 ± 0.3 years. The lethal outcome of patients with HIV infection in the presence of TB and without TB was most often recorded with the number of CD4 + < 200 cells /ml and viral load > 100,000 copies /MBNA of HIV. At the same time, immunosuppression in deceased HIV/TB patients was more pronounced than in HIV-infected patients in the absence of TB.

Keywords: HIV-infected, concomitant tuberculosis, long-term mortality dynamics, causes and risk factors of lethal outcome
No conflict of interest to declare.

For citation: Sergevni VI, Tukacheva OV, Mikova OE, et al. Long-Term Dynamics of HIV-Infected Mortality and Risk Factors of the Lethal Outcome in the Presence and Absence of Concomitant Tuberculosis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 48–58 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-48-58>

Введение

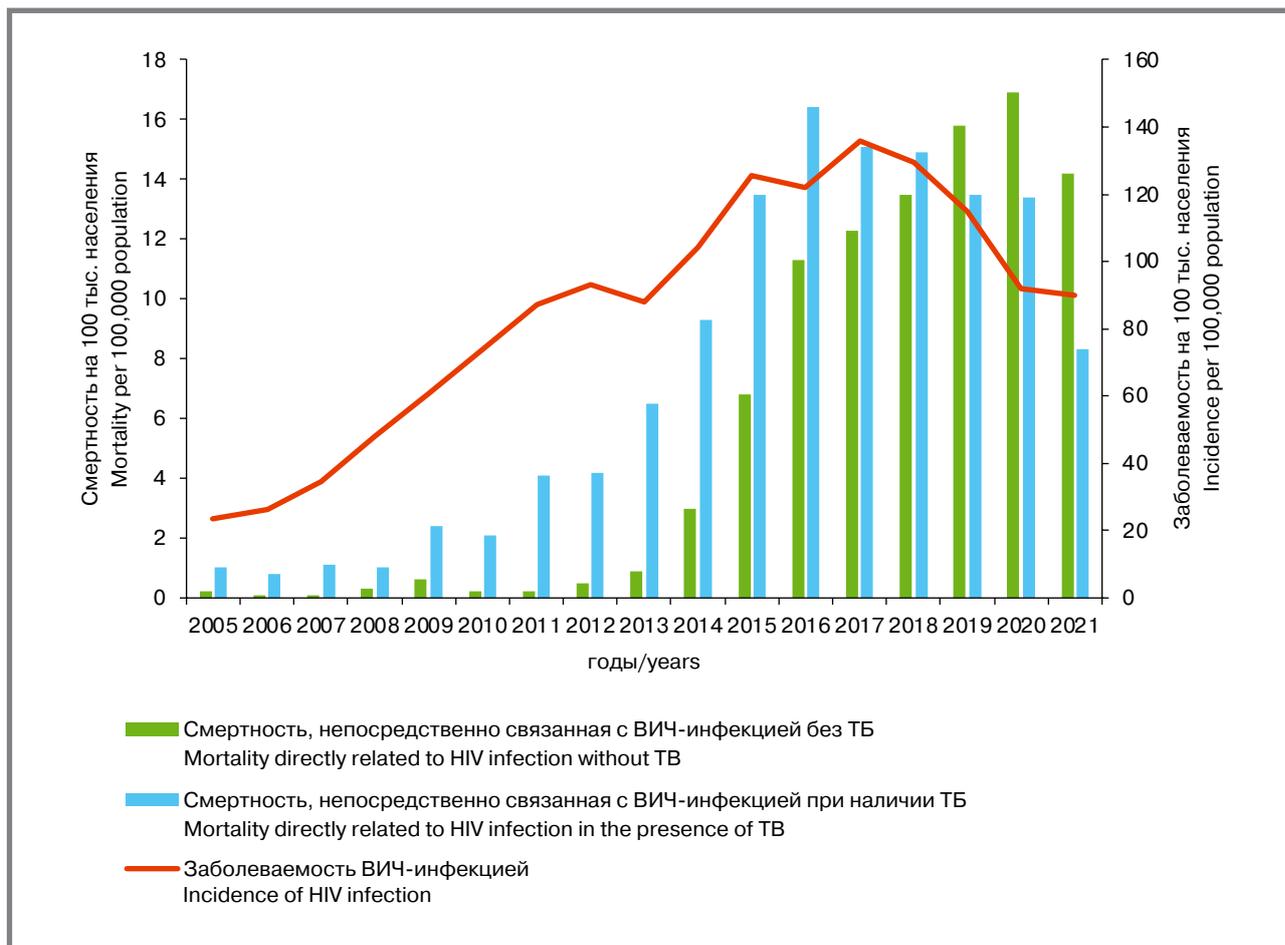
Заболеваемость населения ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулёзом (ВИЧ/ТБ), продолжает

нарастать. ВИЧ-инфекция и ТБ являются инфекциями, которые оказывают синергетический эффект друг на друга. ВИЧ-инфекция снижает иммунитет

Таблица 1. Причины летальных исходов ВИЧ-инфицированных
Table 1. Causes of deaths of HIV-infected

Причины летальных исходов Causes of deaths	Количество летальных исходов Number of deaths	
	абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]
Причина смерти не установлена The cause of death has not been established	713	5,9 [5,5–6,3]
Внешние причины: External causes:	1927	15,9 [0,1–0,2]
Передозировка наркотиков Drug overdose	747	38,8 [36,6–40,9]
Отравление алкоголем, суррогатами алкоголя Alcohol poisoning, alcohol surrogates	100	5,2 [4,2–6,2]
Суицид Suicide	340	17,6 [16,0–19,4]
Травмы и убийства Injuries and murders	740	38,4 [36,2–40,6]
Причины, непосредственно связанные с ВИЧ-инфекцией, в т. ч.: Causes directly related to hiv infection, including:	5893	49,0 [0,4–0,5]
ВИЧ-инфекция без туберкулёза Hiv infection without tuberculosis	3360	57,0 [0,5–0,6]
ВИЧ-инфекция с туберкулёзом Hivinfection with tuberculosis	2533	43,0 [0,4–0,5]
Причины, условно связанные с ВИЧ-инфекцией, в т. ч. болезни: Causes conditionally associated with hiv infection, including diseases:	3532	29,2 [0,2–0,3]
Нервной системы Nervoussystem	133	3,8 [3,2–4,4]
Органов пищеварения Digestiveorgans	907	25,7 [24,2–7,1]
Системы кровообращения Circulatorysystems	1216	34,4 [0,3–0,4]
Органов дыхания Espiratoryorgans	418	11,8 [10,8–12,9]
Новообразования Neoplasms	297	8,4 [7,5–9,3]
Прочие причины смерти Other causes of death	561	15,9 [14,7–17,1]
Итого Total	12065	100

Рисунок 1. Многолетняя динамика общей смертности ВИЧ-инфицированных и заболеваемости ВИЧ-инфекцией
Figure 1. Long-term dynamics of total mortality among HIV-infected people and the incidence of HIV infection



против ТБ, а у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), микобактерии ТБ увеличивают репликацию и гетерогенность ВИЧ [1–3].

Заболеваемость ТБ среди пациентов с ВИЧ-инфекцией в России в 2019 г. составила 1 667,4 на 100 тыс. ВИЧ-инфицированных, что в 60 раз больше, чем в среднем по РФ у пациентов без ВИЧ-инфекции (27,4 на 100 тыс. населения) [4]. Примерно пятая часть больных ТБ являются ВИЧ-инфицированными [5]. Распространенность ВИЧ-инфекции среди больных ТБ колеблется от 10 до 60% [6].

ВИЧ-инфекция и ТБ являются основными причинами смерти от инфекционных заболеваний во всем мире [6, 7]. В России в последние годы среди умерших ВИЧ-инфицированных более четверти составляют больные ВИЧ/ТБ [8]. В 2019 г. в России среди всех умерших пациентов с ТБ 40,8% были инфицированы ВИЧ [9].

Смертность в группе больных ВИЧ/ТБ значительно выше, чем в группах как с моноинфекцией ВИЧ, так и с моноинфекцией ТБ [5, 6]. На территории Северной Танзании с 2012 по 2017 г. для ЛЖВ без признаков ТБ уровень смертности составил 26,2 на 1000 человеко-лет, а для лиц с коинфекцией ВИЧ/ТБ – 57,8 на 1000 человеко-лет. После поправки на возраст, пол, место жительства, стадию

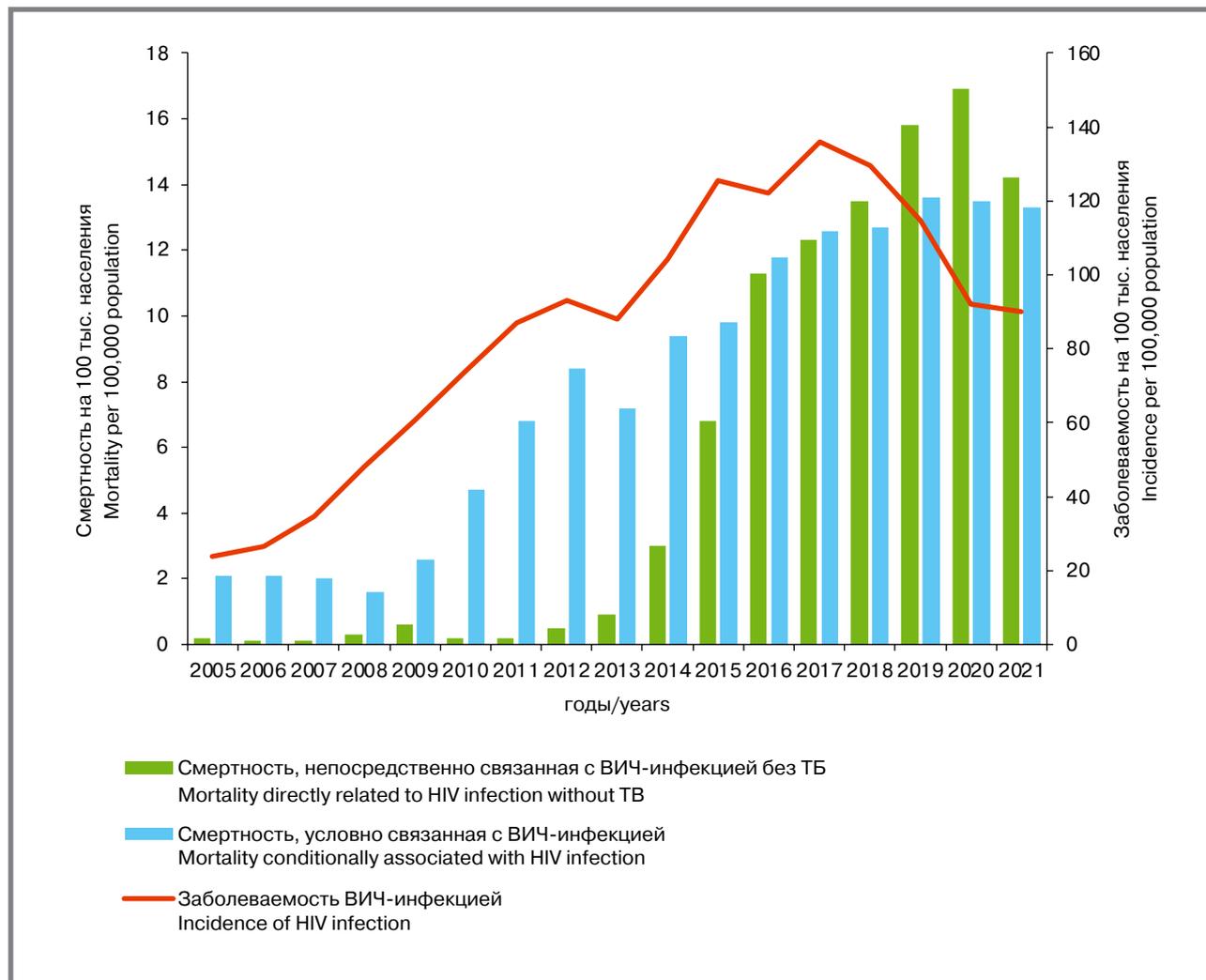
ВИЧ и массу тела больных ВИЧ/ТБ смертность оказалась на 40% выше, чем у ВИЧ-инфицированных лиц без ТБ [10].

По данным ряда сообщений, ведущей причиной смерти на поздних стадиях ВИЧ-инфекции считается ТБ, который выявляется у 1/3 умерших от СПИДа больных в России, а при патологоанатомическом исследовании подтверждается в качестве причины смерти в 86,7% случаев [4, 11]. При изучении причин летального исхода больных ВИЧ/ТБ в течение 12 месяцев в 62 клиниках Европы и Латинской Америки оказалось, что из 1406 пациентов умерли 19%, причем 71% из этих смертей были связаны с ТБ [12].

В качестве факторов риска повышенной смертности от ВИЧ/ТБ называют низкий уровень клеток CD4+ лимфоцитов, диссеминированный и генерализованный ТБ, некачественное лечение инфекций [12–15], а также потребность в искусственной вентиляции лёгких [16].

В последние годы отмечено существенное снижение смертности населения от ТБ и, напротив, значительный рост смертности от ВИЧ-инфекции [17]. При этом динамика показателей смертности от ВИЧ-инфекции и ТБ характеризовалась сближением траекторий их движения с пересечением, зарегистрированным в 2014 г. [18]. Причины этих изменений недостаточно ясны.

Рисунок 2. Многолетняя динамика смертности, непосредственно связанной с ВИЧ-инфекцией, условно связанной с ВИЧ-инфекцией, и заболеваемости ВИЧ-инфекцией
Figure 2. Long-term dynamics of mortality directly related to HIV infection, conditionally associated with HIV infection, and the incidence of HIV infection



Таким образом, представляется актуальной оценка структуры причин летальных исходов у пациентов с ВИЧ/ТБ в многолетней динамике и влияния ТБ на продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных.

Цель работы – изучить многолетнюю динамику смертности и факторы риска летального исхода ВИЧ-инфицированных при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулеза.

Материалы и методы

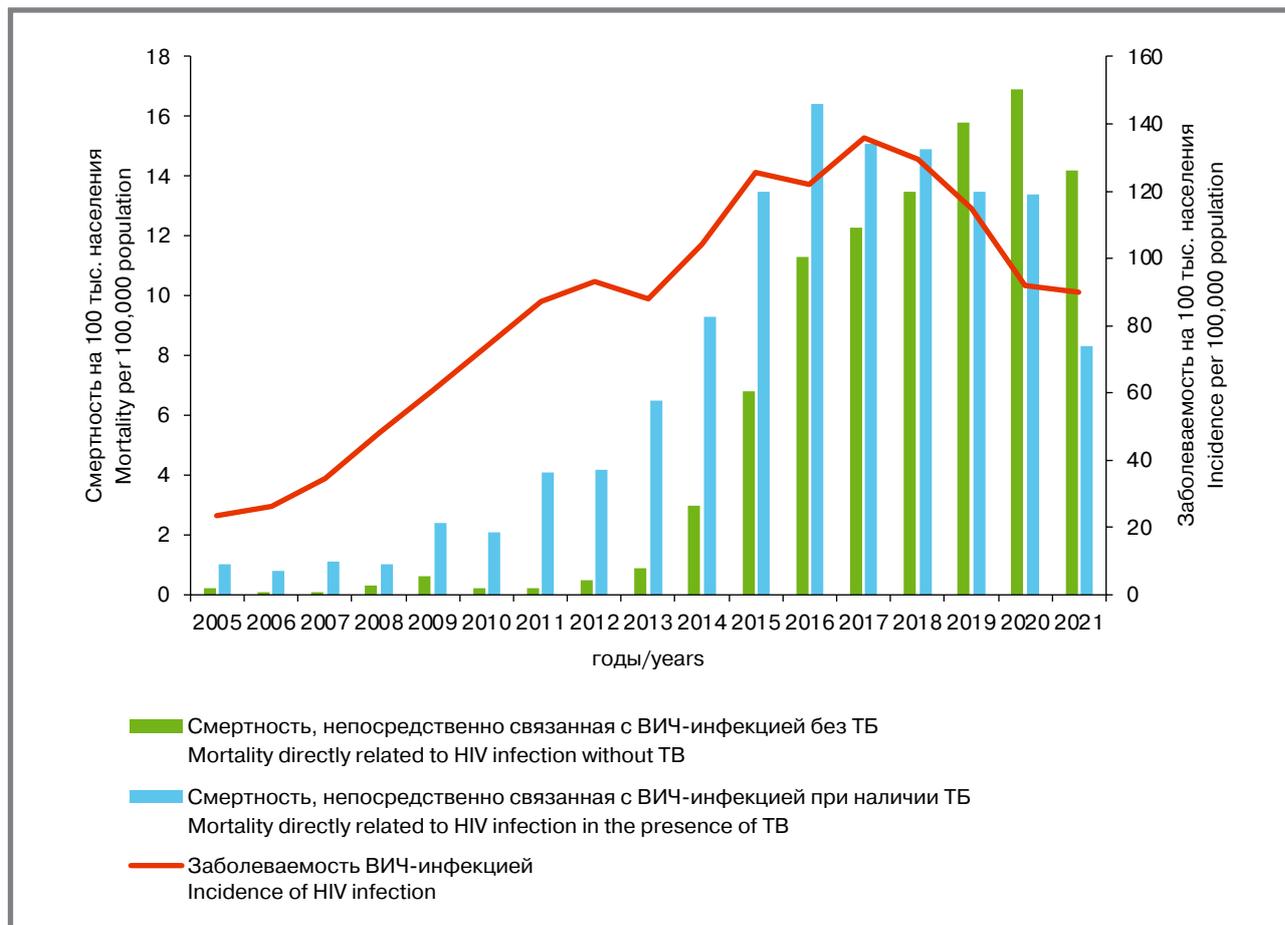
По материалам ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями» проведена оценка показателей заболеваемости ВИЧ-инфекцией и ТБ и смертности от этих инфекций среди населения Пермского края с 2005 г. (год регистрации первых случаев ВИЧ/ТБ) по 2021 г. Используются данные учётно-отчётных форм: № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», № 33 «Сведения о больных туберкулёзом»,

№ 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией», № 106/у «Медицинское свидетельство о смерти», № 013/у «Протокол патолого-анатомического вскрытия», № 170/у «Заключение эксперта (экспертиза трупа)», № 025/у «Медицинская карта пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях», заключение судебно-медицинского эксперта, посмертный эпикриз.

При анализе причин летального исхода из медицинской документации выбирали основное заболевание, приведшее к смерти, и с учётом международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ 10) рассматривали 3 группы причин смерти. Первая группа – внешние причины (S00–T98); вторая – болезни, непосредственно связанные с ВИЧ-инфекцией (B20–B24), включая туберкулёз (A15–A19); третья – новообразования, болезни нервной системы, системы кровообращения, органов дыхания, пищеварения (II, YI, IX, X, XI классы МКБ 10), обозначенные нами как «болезни, условно связанные с ВИЧ-инфекцией».

Рисунок 3. Многолетняя динамика смертности среди ВИЧ-инфицированных при наличии сопутствующего туберкулеза и его отсутствии и заболеваемости ВИЧ-инфекцией

Figure 3. Long-term dynamics of mortality among HIV-infected in the presence of concomitant tuberculosis and its absence and the incidence of HIV infection

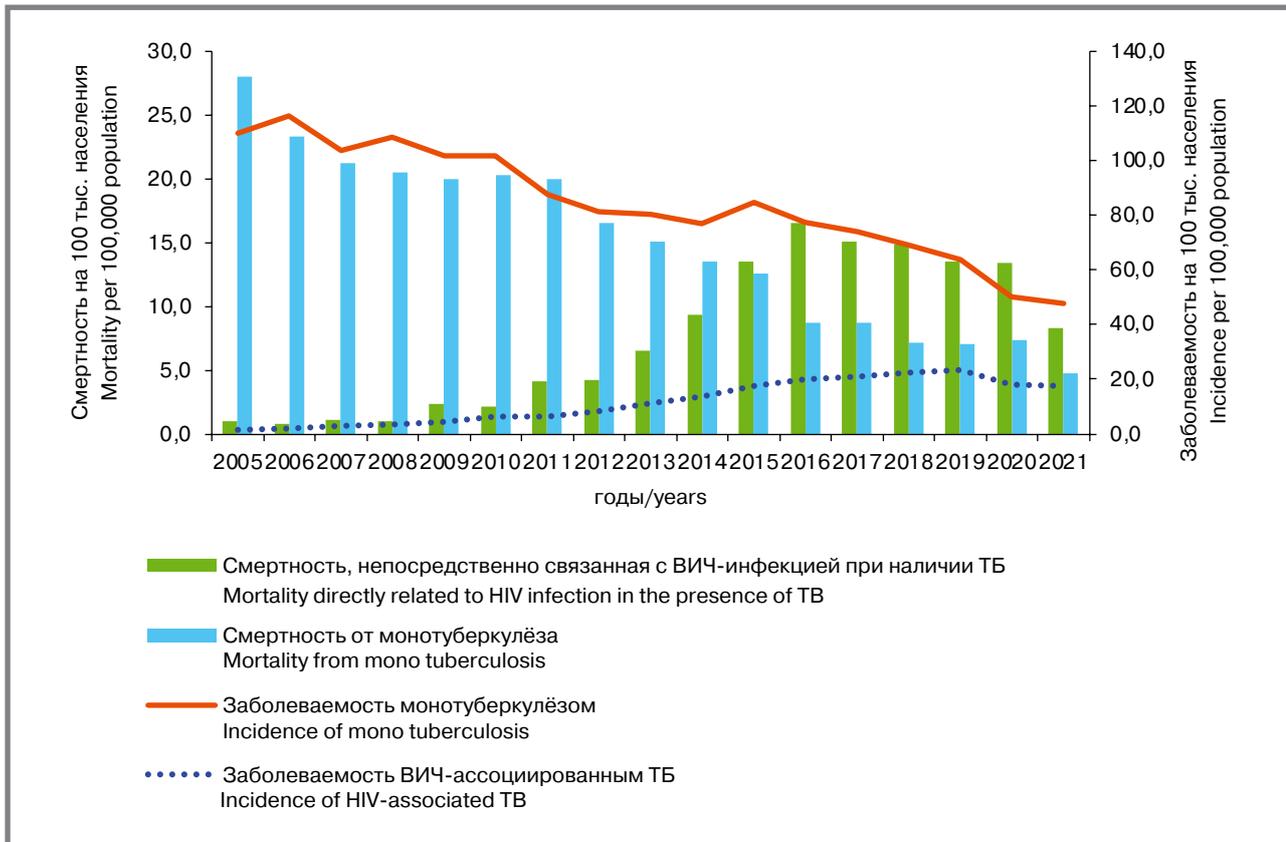


С целью установления продолжительности жизни пациентов и факторов риска летального исхода был проведен анализ 414 амбулаторных карт ВИЧ-инфицированных, умерших в 2021 г. Пациенты были разбиты на 2 группы. Первую группу составили больные ВИЧ/ТБ, у которых ТБ был диагностирован после ВИЧ-инфекции (188 чел.), вторую – ВИЧ-инфицированные без ТБ (226 чел.). Средний возраст больных первой группы на момент установления диагноза ВИЧ-инфекции оказался равным $33,5 \pm 0,6$ года, второй – $35,2 \pm 0,6$ года, на момент смерти – $40,0 \pm 0,5$ и $41,0 \pm 0,5$ года ($p > 0,05$ в обеих группах). Продолжительность жизни больных рассчитывали от даты первичного диагноза ВИЧ-инфекции. При оценке сроков возникновения одного заболевания относительно другого временем начала заболевания считали постановку первичного диагноза: ВИЧ-инфекции – по результату анализа крови методом иммунного блота, ТБ – по первичному диагнозу, установленному фтизиатрической службой на основании клинических, лабораторных и инструментальных данных.

Степень иммунодефицита у больных ВИЧ/ТБ и ВИЧ-инфицированных без ТБ (101 и 73 чел.) и ВН (74 и 58 чел. соответственно) была

учтена по результатам обследований, проведенных в период 6 месяцев до летального исхода. Иммунодефицит оценивали по количеству CD4+ лимфоцитов стандартным методом (проточная цитофлуориметрия) с помощью систем для проточного цитофлуориметра BD FACSCalibur. Вирусную нагрузку определяли путем детекции концентрации РНК ВИЧ в крови методом полимеразной цепной реакции на автоматическом анализаторе Abbott m2000rt с автоматической станцией пробоподготовки Abbott m2000sp.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ «Statistica 6» и «WinPepi», версия 11.65 (автор профессор Joe Abramson, Израиль). Оценку показателей заболеваемости и смертности осуществляли с расчетом средней арифметической (M), стандартной ошибки (m) и параметрического критерия Стьюдента. Определение достоверности различий в частоте возникновения ТБ в зависимости от уровня иммунодефицита и вирусной нагрузки по данным ограниченных по объему выборочных исследований проводили с помощью непараметрического критерия согласия χ^2 . Различия показателей считали статистически значимыми при значении критерия

Рисунок 4. Многолетняя динамика смертности больных и заболеваемости ВИЧ-ассоциированным туберкулёзом и монотуберкулёзом**Figure 4. Long-term dynamics of mortality and morbidity of HIV-associated tuberculosis and monotuberculosis**

Стьюдента $\geq 1,96$, критерия согласия – $\geq 3,8$ ($p < 0,05$). Для изучения вопроса о связи смертности с заболеваемостью ВИЧ-инфекцией рассчитывали соответствующие коэффициенты линейной корреляции.

Результаты и их обсуждение

В целом в 2005–2021 гг. на изучаемой территории умерли 12 065 ВИЧ-инфицированных (табл. 1). В 5,9% случаев причины смерти были не установлены. 15,9% пациентов погибло от внешних причин, в том числе: преднамеренное самоповреждение (17,6%), передозировка наркотиков (38,8%), отравление алкоголем, суррогатами алкоголя 5,2%, травмы и убийства 38,4%. Доля причин смерти, непосредственно связанных с ВИЧ-инфекцией, составила 49,0%, условно связанных с ВИЧ-инфекцией – 29,2%. Среди умерших от причин, непосредственно связанных с ВИЧ-инфекцией, 57,0% были больны ТБ.

Анализ многолетней динамики смертности ВИЧ-инфицированных, связанных со всеми причинами, выявил рост смертности со среднегодовым темпом 8,7% на фоне роста заболеваемости ВИЧ-инфекцией со среднегодовым темпом 12,4% (рис. 1). Показатель смертности на 100 тыс. населения увеличился с 6,5 в 2005 г. до 42,1 в 2021 г., заболеваемости – с 23,7 до 90,1. Корреляционный анализ выявил сильную достоверную связь между

общей смертностью ВИЧ-инфицированных и заболеваемостью ВИЧ-инфекцией ($r = 0,85 \pm 0,07$). Уместно заметить, что в 2020–2021 гг. отмечено существенное снижение заболеваемости ВИЧ-инфекцией, а с 2021 г. – и смертности от этой инфекции. Возможно, что это связано с эпидемией новой коронавирусной инфекции, которая, с одной стороны, оказала тормозящее влияние на выявляемость ВИЧ-инфицированных, а с другой, обусловила в ряде случаев перераспределение непосредственной причины летальных исходов ВИЧ-инфицированных в сторону COVID-19.

Оценка многолетней динамики смертности ВИЧ-инфицированных от причин, непосредственно и условно связанных с ВИЧ-инфекцией, не выявила принципиальных различий между ними (рис. 2). Среднегодовой темп прироста смертности, связанной непосредственно с инфекцией, составил 30,5%, связанной условно – 12,2%. Коэффициенты корреляции между смертностью от причин, непосредственно и условно связанных с ВИЧ-инфекцией, с одной стороны, и заболеваемостью ВИЧ-инфекцией, с другой, составили соответственно $0,67 \pm 0,13$ и $0,87 \pm 0,06$. Эти данные указывают, что неинфекционные болезни ВИЧ-инфицированных, которые в случае летального исхода пациентов формально не считаются связанными с ВИЧ-инфекцией, всё же могут оказаться в ряде случаев следствием ВИЧ-инфекции.

Таблица 2. Сроки установления диагноза туберкулёза от первично установленной ВИЧ-инфекции
Table 2. Terms of establishing the diagnosis of tuberculosis from the primary established HIV infection

Срок возникновения туберкулёза от даты первично установленной ВИЧ-инфекции The period of occurrence of tuberculosis from the date of the first established HIV infection	Кол-во больных Number of patients	
	абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]
До года Up to a year	44	23,4 [17,5–30,1]
1 г (от 1 до 2) 1 year (from 1 to 2)	23	12,2 [7,9–17,7]
2 г (от 2 до 3) 2 years (from 2 to 3)	19	10,1 [6,2–15,3]
3 г (от 3 до 4) 3 years (from 3 to 4)	18	9,6 [5,7–14,7]
4 г (от 4 до 5) 4 years (from 4 to 5)	12	6,4 [3,3–10,8]
5 лет (от 5 до 6) 5 years (from 5 to 6)	13	6,9 [3,7 - 11,5]
6 лет (от 6 до 7) 6 years (from 6 to 7)	10	5,3 [2,6–9,5]
7 лет (от 7 до 8) 7 years (from 7 to 8)	13	6,9 [3,7–11,5]
8 лет (от 8 до 9) 8 years (from 8 to 9)	9	4,8 [2,8–8,8]
9 лет (от 9 до 10) 9 years (from 9 to 10)	9	4,8 [2,8–8,8]
10 лет (от 10 до 11) 10 years (from 10 to 11)	1	0,5 [0,01–2,9]
11 лет (от 11 до 12) 11 years (from 11 to 12)	4	2,1 [0,6–5,3]
12 лет (от 12 до 13) 12 years old (from 12 to 13)	5	2,7 [0,9–6,1]
13 лет (от 13 до 14) 13 years old (from 13 to 14)	2	1,1 [0,1–3,7]
14 лет (от 14 до 15) 14 years old (from 14 to 15)	3	1,6 [0,3–4,5]
15 лет (от 15 до 16) 15 years (from 15 to 16)	0	0
16 лет (от 16 до 17) 16 years old (from 16 to 17)	1	0,5 [0,01–2,9]
17 лет (от 17 до 18) 17 years old (from 17 to 18)	0	0
18 лет (от 18 до 19) 18 years old (from 18 to 19)	0	0
19 лет (от 19 до 20) 19 years old (from 19 to 20)	2	1,1 [0,1–3,7]
Всего Total	188	100

Сравнительный анализ многолетней динамики смертности непосредственно от ВИЧ-инфекции при наличии и отсутствии сопутствующего ТБ выявил (рис. 3), что между смертностью от коинфекции и заболеваемостью ВИЧ-инфекцией коэффициент корреляции составил $0,67 \pm 0,13$,

между смертностью ВИЧ-инфицированных без ТБ и заболеваемостью ВИЧ-инфекцией $0,90 \pm 0,05$.

Сопоставление многолетней динамики смертности больных монотуберкулёзной инфекцией и больных ВИЧ/ТБ показало (рис. 4), что, несмотря на снижение смертности больных ТБ

Таблица 3. Продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза
Table 3. Life expectancy of HIV-infected in the presence and absence of concomitant tuberculosis

Продолжительность жизни от диагностики ВИЧ-инфекции Life expectancy from HIV infection diagnosis	Кол-во ВИЧ-инфицированных при наличии туберкулёза Number of HIV-infected in the presence of tuberculosis		Кол-во ВИЧ-инфицированных без туберкулёза Number of HIV-infected in the presence of tuberculosis	
	абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]	абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]
До года Up to a year	20	10,6 [6,6–15,9]	21	9,3 [6,0–13,8]
1 г (от 1 до 2) 1 year (from 1 to 2)	21	11,2 [7,0–16,5]	19	8,4 [5,1–12,8]
2 г (от 2 до 3) 2 years (from 2 to 3)	14	7,4 [4,1–11,1]	12	5,3 [2,7–9,0]
3 г (от 3 до 4) 3 years (from 3 to 4)	17	9,0 [5,4–14,0]	17	7,5 [4,4–11,7]
4 г (от 4 до 5) 4 years (from 4 to 5)	15	8,0 [4,5–12,8]	16	7,1 [4,1–11,2]
5 лет (от 5 до 6) 5 years (from 5 to 6)	18	9,6 [5,7–14,7]	19	8,4 [5,1–12,8]
6 лет (от 6 до 7) 6 years (from 6 to 7)	16	8,5 [5,0–13,4]	21	9,3 [6,0–13,8]
7 лет (от 7 до 8) 7 years (from 7 to 8)	14	7,4 [4,1–12,1]	20	8,8 [5,5–13,3]
8 лет (от 8 до 9) 8 years (from 8 to 9)	14	7,4 [4,1–12,1]	17	7,5 [4,4–11,7]
9 лет (от 9 до 10) 9 years (from 9 to 10)	11	6,0 [3,0–10,2]	18	8,0 [4,8–12,3]
10 лет (от 10 до 11) 10 years (from 10 to 11)	7	3,7 [1,5–7,5]	12	5,3 [2,7–9,0]
11 лет (от 11 до 12) 11 years (from 11 to 12)	5	2,7 [0,8–6,1]	8	3,5 [1,5–6,8]
12 лет (от 12 до 13) 12 years old (from 12 to 13)	9	4,8 [2,2–8,8]	10	4,4 [2,1–7,9]
13 лет (от 13 до 14) 13 years old (from 13 to 14)	4	2,1 [0,6–5,3]	3	1,4 [0,3–3,8]
14 лет и старше 14 years old and over	3	1,6 [0,3–4,5]	13	5,7 [3,1–9,6]
Всего Total	188	100	226	100

со среднегодовым темпом 10,5%, отмечено нарастание смертности больных ВИЧ/ТБ со среднегодовым темпом 14,1%. В итоге с 2016 г. смертность больных ВИЧ/ТБ стала превышать смертность от монотуберкулёзной инфекции. При этом разнонаправленные тенденции в многолетней динамике смертности больных ТБ и ВИЧ/ТБ совпали соответственно со снижением заболеваемости ТБ со среднегодовым темпом 5,1% и ростом заболеваемости ВИЧ/ТБ со среднегодовым темпом 16,1%. Коэффициенты корреляции между смертностью и заболеваемостью в первом и втором случаях составили соответственно $0,92 \pm 0,03$ и $0,97 \pm 0,02$. Таким образом очевидно, что рост смертности больных ВИЧ/ТБ в последние годы прежде всего

связан с активизацией эпидемического процесса ВИЧ-инфекции.

Оценка сроков возникновения ТБ от первично установленной ВИЧ-инфекции на примере летальных исходов в 2021 г. показала (табл. 2), что ТБ регистрировался в разное время в течение 19 лет после выявления ВИЧ-инфекции. Средний срок диагностирования ТБ после ВИЧ-инфицирования составил $4,5 \pm 0,3$ года. При этом наиболее часто заражение туберкулёзом происходило в течение первого года после выявления ВИЧ-инфекции. Доля ТБ в этот период составила 23,4%, тогда как через иные интервалы (2, 3, 4 года и т. д.) – от 0 до 12,2% ($p = 0,005–0,001$). Повышенная частота инфицирования ТБ в первый год после

Таблица 4. Доля лиц с разной степенью иммунных нарушений среди умерших ВИЧ-инфицированных при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза

Table 4. The proportion of persons with varying degrees of immune disorders among HIV-infected deceased in the presence and absence of concomitant tuberculosis

Кол-во CD4 клеток/мкл Number of CD4 cells/mcl	ВИЧ-инфекция, сочетанная с туберкулёзом HIV infection combined with tuberculosis			ВИЧ-инфекция без туберкулёза HIV infection without tuberculosis		
	медиана CD4 клеток median of CD4 cells	кол-во больных Number of patients		медиана CD4 клеток median of CD4 cells	кол-во больных Number of patients	
		абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]		абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]
<200	49±5,2	86	85,1 [76,6–91,4]	47 ± 7,7	52	71,2 [59,4–81,2]
200–349	235 ± 17,3	6	6,0 [2,2–12,4]	320 ± 36,4	9	12,3 [5,8–22,1]
350–499	430 ± 21,1	7	6,9 [2,8–13,7]	400 ± 13,9	7	9,6 [3,9–18,7]
>500	585 ± 45,0	2	2,0 [0,2–6,9]	1000 ± 135,1	5	6,8 [2,3–15,2]
Всего Total	57 ± 13,0	101	100	72 ± 31,5	73	100

Таблица 5. Доля лиц с разной степенью вирусной нагрузки среди умерших ВИЧ-инфицированных при наличии и отсутствии сопутствующего туберкулёза

Table 5. The proportion of persons with varying degrees of viral load among those who have died HIV-infected in the presence and absence of concomitant tuberculosis

Степень вирусной нагрузки (кол-во копий/мл) Degree of viral load (number of copies/ml)	ВИЧ-инфекция, сочетанная с туберкулёзом HIV infection combined with tuberculosis			ВИЧ-инфекция без туберкулёза HIV infection without tuberculosis		
	медиана РНК ВИЧ, копий/мл (log ₁₀) median HIV RNA, copies/ml (log ₁₀)	кол-во больных Number of patients		медиана РНК ВИЧ, копий/мл (log ₁₀) median HIV RNA, copies/ml (log ₁₀)	кол-во больных Number of patients	
		абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]		абс. abs.	% [95% ДИ] % [95% CI]
<1000	745 ± 125,8 (2,7 ± 0,1)	6	8,1 [3,0–16,8]	555 ± 155,5 (2,7 ± 0,2)	5	8,6 [2,9–8,9]
1000–10 000	4530 ± 1570,0 (3,7 ± 0,2)	5	6,7 [2,2–5,0]	1585 ± 252,0 (3,2 ± 0,1)	4	6,9 [1,9–16,7]
10 000–100 000	55742 ± 7973,8 (4,7 ± 0,1)	12	16,2 [8,7–26,6]	29900 ± 7862,2 (4,5 ± 0,1)	11	19,0 [9,9–1,4]
>100 000	488075 ± 274560,0 (5,7 ± 0,1)	51	69,0 [57,1–79,1]	441093 ± 143601,1 (5,6 ± 0,1)	38	65,5 [51,9–7,5]
Всего Total	343389 ± 202684,6 (5,5 ± 0,1)	74	100	205500 ± 105117,2 (5,3 ± 0,1)	58	100

выявления ВИЧ-инфекции связана, по-видимому, с острой фазой ВИЧ-инфекции.

Дифференцированный анализ продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных, умерших непосредственно от инфекции, при наличии и отсутствии ТБ показал (табл. 3), что средний срок жизни пациентов с моноинфекцией составил 6,7 ± 0,3 года, тогда как с ВИЧ-инфекцией в сочетании с ТБ – 5,7 ± 0,3 года, т. е. на 1 год меньше (p = 0,018). Следует отметить, что заболеваемость COVID-19 не оказала существенного влияния на частоту летального исхода. Из числа заболевших ВИЧ/ТБ в течение года перенесли COVID-19 20,7% [15,2–27,2%], из числа ВИЧ-инфицированных без ТБ – 19,9% [14,9–25,7%]. Средний срок жизни после

постановки COVID-19 в первой группе составил 0,2 ± 0,03, во второй – 0,1 ± 0,01 (p > 0,05).

Оценка летального исхода больных в зависимости от степени иммунных нарушений показала (табл. 4), что медиана количества CD4+ клеток у больных ВИЧ/ТБ (57 ± 13,0) по сравнению с ВИЧ-инфекцией без ТБ (72 ± 31,5) была ниже, но статистически не значимо (p > 0,05). В то же время смертельный исход наиболее часто регистрировался у пациентов обеих групп при количестве CD4+ менее 200 клеток/мкл. Доля таких лиц среди больных ВИЧ/ТБ составила 85,1%, среди больных ВИЧ-инфекцией без ТБ – 71,2%, что оказалось статистически значимо выше, чем доля умерших с количеством CD4+ клеток 200–349, 350–499

и менее 500 клеток/мкл ($p < 0,05$ во всех случаях). При этом доля умерших с количеством CD4+ более 200 клеток/мкл среди больных ВИЧ/ТБ (85,1%), по сравнению с больными ВИЧ-инфекцией без ТБ (71,2%), оказалась статистически значимо больше ($\chi^2 = 5,0$; $p = 0,026$).

Изучение вирусологических показателей у умерших больных позволило установить (табл. 5), что средняя вирусная нагрузка у больных ВИЧ/ТБ ($343389 \pm 202\ 684,6$; $5,5 \pm 0,1 \log_{10}$) оказалась такой же как и у ВИЧ-инфицированных без ТБ ($205\ 500 \pm 1051\ 17,2$; $5,3 \pm 0,1 \log_{10}$) ($p = 0,2$). При этом смертельный исход наиболее часто регистрировался у пациентов обеих групп при вирусной нагрузке более 100 000 копий/мл РНК ВИЧ. Доля таких лиц среди больных ВИЧ/ТБ составила 69,0%, среди больных ВИЧ-инфекцией без ТБ – 65,5%, что оказалось достоверно выше, чем доля умерших с ВН 10000–100000, 1000–10000 и менее 1000 ($p < 0,05$ во всех случаях).

Заключение

За 15-летний период регистрации заболеваемости ВИЧ/ТБ на изучаемой территории среди умерших от причин, непосредственно связанных с ВИЧ-инфекцией, 57% были больны ТБ. При этом, несмотря на снижение смертности от монотуберкулезной инфекции в результате снижения заболеваемости ТБ, в последние годы отмечен рост смертности от ВИЧ/ТБ вследствие активизации эпидемического процесса ВИЧ-инфекции. Средняя продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных, умерших непосредственно от ВИЧ-инфекции, при отсутствии ТБ составила $6,7 \pm 0,3$ года, при сопутствующем ТБ – $5,7 \pm 0,3$ года. Летальный исход больных ВИЧ-инфекцией при наличии ТБ и без ТБ наиболее часто регистрировался при количестве CD4+ менее 200 клеток/мкл и вирусной нагрузке более 100 000 копий/мл РНК ВИЧ. При этом иммуносупрессия у умерших больных ВИЧ/ТБ была более выраженной, чем у ВИЧ-инфицированных при отсутствии ТБ.

Литература

- Kalsdorf B, Skolimowska KH, Scriba TJ, et al. Relationship between chemokine receptor expression, chemokine levels and HIV-1 replication in the lungs of persons exposed to Mycobacterium tuberculosis. *Eur J Immunol.* 2013;43(2):540–549. doi:10.1002/eji.201242804.
- Toossi Z, Johnson JL, Kanost RA, et al. Increased replication of HIV-1 at sites of Mycobacterium tuberculosis infection: potential mechanisms of viral activation. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;28(1):1–8. doi:10.1097/00042560-200109010-00001.
- Goletti D, Weissman D, Jackson RW, et al. Effect of Mycobacterium tuberculosis on HIV replication. Role of immune activation. *J Immunol.* 1996;157(3):1271–1278.
- Астрелин, А. М. Тенденции заболеваемости, распространенности и смертности от ВИЧ-инфекции и туберкулеза в регионах России в XXI веке. Демографическое обозрение. – 2020. – Т. 7. – № 4. – С. 82–107. – doi: 10.17323/demreview.v7i4.12045.
- Zheng ZG, Geng WK, Lu ZZ, et al. Impact of HIV and Mycobacterium tuberculosis co-infection on related mortality. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2018 Oct 10;39(10):1362–1367. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.10.014.
- Mukuku, O., et al. Tuberculosis and HIV co-infection in Congolese children: risk factors of death. *The Pan African medical journal vol.* 33 326. 27 Aug. 2019, doi:10.11604/pamj.2019.33.326.18911.
- Рахманова А. Г., Яковлев А. А., Комарова Д. В. и др. Характеристика летальных исходов от туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2012. – Т. 4. – № 2. – С. 120–123.
- Зимина В. Н., Микова О. Е., Варейская Т. А. и др. Выявление микобактерий туберкулеза в мокроте и массивность бактериовыделения у больных туберкулезом с различным ВИЧ-статусом. Туберкулез и болезни легких. 2017;95(7):17–23. doi:10.21292/2075-1230-2017-95-7-17-23.
- ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России (2019). Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России. Доступно на: <https://mednet.ru/images/materials/CMT/tuberkulez-2019.pdf>.
- Molle EW, Todd J, Mahande MJ, et al. Effect of tuberculosis infection on mortality of HIV-infected patients in Northern Tanzania. *Trop Med Health.* 2020 Apr 27;48:26. doi:10.1186/s41182-020-00212-z.
- Веселова Е. И., Каминский Г. Д., Самойлова А. Г., и др. Резервуар ВИЧ у больных ВИЧ-инфекцией. Туберкулез и болезни легких. 2019; 97(5):50–57. doi:10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57.
- Podlekareva DN, Efsen AM, Schultze A, et al. Tuberculosis-related mortality in people living with HIV in Europe and Latin America: an international cohort study. *Lancet HIV.* 2016;3(3):e120–e131. doi:10.1016/S2352-3018(15)00252-0
- Викторова И. Б., Ханин А. Л., Зимина В. Н. Летальные исходы у больных с ВИЧ-инфекцией в крупном противотуберкулезном учреждении Кемеровской области. Журнал инфектологии. 2017;9(3):25–31. doi:10.22625/2072-6732-2017-9-3-25-31.
- Пузырева Л. В., Мордык А. В., Руденко С. А. и др. Анализ летальных исходов пациентов противотуберкулезного диспансера с выделением случаев сочетания «ВИЧ – туберкулез». Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Т. 12. – № 2. – С. 169–172. – DOI 10.14300/mnnc.2017.12047.
- Stijnberg, D, Commiesse E, Marin D, et al. Factors associated with mortality in persons co-infected with tuberculosis and HIV in Suriname: a retrospective cohort study. *Rev Panam Salud Publica.* 2019 Dec 20;43:e103. doi:10.26633/RPSP.2019.103.
- da Silva Escada, R.O., Velasque, L., Ribeiro, S.R., et al. Mortality in patients with HIV-1 and tuberculosis co-infection in Rio de Janeiro, Brazil - associated factors and causes of death. *BMC Infect Dis* 17, 373 (2017). doi.org/10.1186/s12879-017-2473-y.
- Наркевич А. Н., Виноградов К. А., Наркевич А. А., Гржибовский А. М. 20-летняя динамика смертности от туберкулеза, ВИЧ-инфекции и их вклада в снижение ожидаемой продолжительности жизни населения Красноярского края. Сибирское медицинское обозрение. 2021;(2):47–53. doi: 10.20333/2500136-2021-2-47-53.
- Цыбикова Э. Б., Сон И. М., Владимиров А. В. Смертность от туберкулеза и ВИЧ-инфекции в России. Туберкулез и болезни легких. 2020; 98(6):15–21. doi:10.21292/2075-1230-2020-98-6-15-21.

References

- Kalsdorf B, Skolimowska KH, Scriba TJ, et al. Relationship between chemokine receptor expression, chemokine levels and HIV-1 replication in the lungs of persons exposed to Mycobacterium tuberculosis. *Eur J Immunol.* 2013;43(2):540–549. doi:10.1002/eji.201242804.
- Toossi Z, Johnson JL, Kanost RA, et al. Increased replication of HIV-1 at sites of Mycobacterium tuberculosis infection: potential mechanisms of viral activation. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;28(1):1–8. doi:10.1097/00042560-200109010-00001.
- Goletti D, Weissman D, Jackson RW, et al. Effect of Mycobacterium tuberculosis on HIV replication. Role of immune activation. *J Immunol.* 1996;157(3):1271–1278.
- Astrelin, A.M. Trends in morbidity, prevalence and mortality from HIV infection and tuberculosis in the regions of Russia in the XXI century. *Demographic review.* 2020;7(4):82–107 (In Russ.). doi 10.17323/demreview.v7i4.12045.
- Zheng ZG, Geng WK, Lu ZZ, et al. Impact of HIV and Mycobacterium tuberculosis co-infection on related mortality. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2018 Oct 10;39(10):1362–1367. (Chinese). doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.10.014.
- Mukuku, O., et al. Tuberculosis and HIV co-infection in Congolese children: risk factors of death. *The Pan African medical journal vol.* 33 326. 27 Aug. 2019, doi:10.11604/pamj.2019.33.326.18911.
- Rakhmanova A.G., Yakovlev A.A., Komarova D.V. et al. Characteristics of lethal cases among HIV-infected patients. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders.* 2012; 4(2):120–123 (In Russ.).
- Zimina V.N., Mikova O.E., Varetskaya T.A., et al. Detection of mycobacterium tuberculosis in sputum and massive bacterial excretion in tuberculosis patients with different

Original Articles

- HIV status. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017;95(7):17–23 (In Russ.). doi: 0.21292/2075-1230-2017-95-7-17-23.
9. FGBU «TSNIOIZ» Minzdrava Rossii [Federal State Budgetary Institution "Central Research Institute of Healthcare Organization and Informatization" of the Ministry of Health of the Russian Federation] (2019). *Epidemicheskaya situatsiya po tuberkulezu v Rossii [The epidemic situation of tuberculosis in Russia]*. URL: <https://mednet.ru/images/materials/CMT/tuberkulez-2019.pdf> (In Russ.)
 10. Mollel EW, Todd J, Mahande MJ, et al. Effect of tuberculosis infection on mortality of HIV-infected patients in Northern Tanzania. *Trop Med Health*. 2020 Apr 27;48:26. doi:10.1186/s41182-020-00212-z.
 11. Veselova E. I., Kaminskiy G. D., Samoylova A.G. et al. HIV reservoir in HIV patients. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2019;97(5):50–57 (In Russ.). doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-5-50-57.
 12. Podlekareva DN, Efsen AM, Schultze A, et al. Tuberculosis-related mortality in people living with HIV in Europe and Latin America: an international cohort study. *Lancet HIV*. 2016;3(3):e120–e131. doi:10.1016/S2352-3018(15)00252-0.
 13. Viktorova IB, Khanin AL, Zimina VN. Causes of death in HIV-infected patients in a large tuberculosis hospital of Kemerovo region. *Journal Infectology*. 2017;9(3):25–31 (In Russ.). doi:10.22625/2072-6732-2017-9-3-25-31.
 14. Puzyreva L.V., Mordyk A.V., Rudenko S.A., et al. The analysis of death outcomes in patients of antituberculosis dispensary: Tuberculosis in combination with HIV *Medical news of north Caucasus* (In Russ.). 2017;12(2):169–172. – doi 10.14300/mnnc.2017.12047.
 15. Stijnberg, D, Commiesie E, Marin D, et al. Factors associated with mortality in persons co-infected with tuberculosis and HIV in Suriname: a retrospective cohort study. *Rev Panam Salud Publica*. 2019 Dec 20;43:e103. doi:10.26633/RPSP.2019.103.
 16. da Silva Escada, R.O., Velasque, L., Ribeiro, S.R. et al. Mortality in patients with HIV-1 and tuberculosis co-infection in Rio de Janeiro, Brazil - associated factors and causes of death. *BMC Infect Dis* 17, 373 (2017). doi.org/10.1186/s12879-017-2473-y.
 17. Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Narkevich A.A., Grijbovski A.M. 20-years dynamics of tuberculosis and HIV mortality and of their contribution to life expectancy reduction in the population of Krasnoyarsk. *Siberian Medical Review*. 2021;(2):47–53 (In Russ.). doi: 10.20333/2500136-2021-2-47-53.
 18. Tsybikova E.B., Son I.M., Vladimirov A.V. Tuberculosis and HIV mortality in Russia. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2020;98(6):15–21 (In Russ.). doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-6-15-21.

Об авторах

- **Виктор Иванович Сергеевич** – д. м. н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены, ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26. +7 (342) 233-40-15, +7 (912) 592-91-40, . orcid.org/0000-0002-2729-2248.
- **Ольга Владимировна Тукачёва** – врач-эпидемиолог, ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», 614088, г. Пермь, ул. Свйязева, 21, +7 (950) 448-63-42, olga_tukacheva@mail.ru. orcid.org/0000-0003-4991-8325.
- **Оксана Евстегнеевна Микова** – к. м. н., зам. главного врача по лечебной работе, ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», 614088, г. Пермь, ул. Свйязева, 21. +7 (342) 285-03-13, mikovaoe@mail.ru. orcid.org/0000-0003-4674-1747.
- **Марина Владимировна Рожкова** – врач-эпидемиолог, ГКУЗ Пермского края «Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями», 614088, г. Пермь, ул. Свйязева, 21. rozhkovamary@yandex.ru. orcid.org/0000-0002-1113-1001.

Поступила: 21.05.2022. Принята к печати: 14.09.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Viktor I. Sergevnik** – Dr. Sci. (Med.), professor of the department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, 26, Petropavlovskaya str., Perm, 614990, Russia. +7 (342) 233-40-15, +7 (912) 592-91-40, viktor-sergevnik@mail.ru. orcid.org/0000-0002-2729-2248.
- **Olga V. Tukacheva** – epidemiologist, Perm Regional Center for AIDS and infectious diseases Control and Prevention, 21, Sviyazeva St., Perm, 614088, Russia. +7 (950) 448-63-42, olga_tukacheva@mail.ru. orcid.org/0000-0003-4991-8325.
- **Oksana E. Mikova** – Cand. Sci. (Med.), Perm Regional Center for AIDS and infectious diseases Control and Prevention, 21, Sviyazeva St., Perm, 614088, Russia. +7 (342) 285-03-13, mikovaoe@mail.ru. orcid.org/0000-0003-4674-1747.
- **Marina V. Rozhkova** – epidemiologist, Perm Regional Center for AIDS and infectious diseases Control and Prevention, 21, Sviyazeva St., Perm, 614088, Russia. rozhkovamary@yandex.ru. orcid.org/0000-0002-1113-1001.

Received: 21.05.2022. Accepted: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора назначен в качестве референс-центра ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам

Пресс-релиз от 22 декабря 2022 г.

Это событие стало возможным благодаря кропотливой работе сотрудников ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора чтобы пройти все этапы, необходимые для назначения института референс-центром ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам.

Статус референс-центра ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора будет сохранять в течение четырех лет, который может быть продлен после положительного рассмотрения результатов его работы.

Назначение ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора девятым международным референс-центром ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам в мире является признанием его профессионального опыта как в области изучения устойчивости к противомикробным препаратам на территории субъектов РФ и стран ЕАЭС и Республики Таджикистан, так и в сфере научных и технических знаний по вопросам, связанным с деятельностью ФАО. Новый статус внесет значительный вклад в межсекторальные усилия по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам, придаст дополнительный стимул в развитие региональной лабораторной сети по устойчивости к противомикробным

препаратам в продовольственном секторе и сельском хозяйстве в отдельных странах Восточной Европы, Закавказья и Центральной Азии, укрепит нашу поддержку глобальной кампании по борьбе с УПП. А также позволит ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора как референс-центру ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам официально использовать название, эмблему и другие логотипы ФАО в своих документах.

Основные цели деятельности референс-центра ФАО по устойчивости к противомикробным препаратам соответствуют Плану действий ФАО по УПП на 2021–2025 годы.

Устойчивость к противомикробным препаратам — это глобальная угроза, которая требует скоординированного и совместного подхода «Единое здоровье» на взаимодействие человека, животных, растений и окружающей среды. Учитывая глобальные масштабы распространения, устойчивость к противомикробным препаратам представляет собой чрезвычайно сложную проблему, требующую решения на всех уровнях, включая местный, национальный, региональный или международный.

Источник: <https://www.rospotrebнадzor.ru/>

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-59-64>

Актуальные серотипы *Streptococcus pneumoniae*, циркулировавшие на территории Свердловской области в 2020–2021 годах

Е. В. Болгарова*¹, Ю. А. Захарова¹, И. С. Мухачев², И. А. Короткова¹,
И. А. Иващенко¹, А. В. Остапчук¹, О. И. Мамонтов²

¹ Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия

² ФГКУ «1026 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора» Минобороны России, г. Екатеринбург, Россия

Резюме

Актуальность. Изучение распространения отдельных серотипов *S. pneumoniae* имеет важное эпидемиологическое и клиническое значение. Особую актуальность в аспекте данной проблемы имеет Свердловская область, где 20% внебольничной пневмонии (ВП) вызывает *S. pneumoniae* и до 70% ВП заканчивается летальным исходом. **Цель.** Изучить особенности серотипового пейзажа *S. pneumoniae* среди невакцинированных детей (от 0 до 5 лет) и вакцинированных взрослых (от 19 до 27 лет).

Материалы и методы. В эпидемиологическом наблюдательном описательно-оценочном исследовании анализировались данные, полученные при исследовании носоглоточных мазков, взятых в двух группах наблюдения: невакцинированные дети в возрасте от 0 до 5 лет с диагнозом «острая респираторная инфекция (ОРИ)» – 159 человек и вакцинированные взрослые в возрасте от 19 до 27 лет с диагнозом «практически здоров» – 392. Методом мультиплексной ПЦР выполнено молекулярно-генетическое типирование 20 распространённых серотипов/серогрупп *S. pneumoniae* (1, 2, 3, 4, 5, 14, 16F, 19A, 19F, 23A, 23F, 6ABCD, 7AF, 9AV, 9LN, 11AD, 15AF, 18ABCF, 22AF, 12FAB/44/46, 33AF/37). **Результаты и обсуждение.** У 27,0% и 28,1% лиц изучаемых групп наблюдения установлено присутствие в биологическом материале 12 серотипов *S. pneumoniae*: вакцинных – 19F – 2,6%, 6ABCD – 2,6%, 4 – 2,0%, 23F – 2,0%, 9AV – 1,3%, 9LN – 0,6%, 11AD – 1,3%, 18ABCF – 2,0% и невакцинных – 15AF – 0,7%, 16F – 0,6%. В структуре доминировали нетипируемые штаммы с наибольшей долей (77,3%) среди взрослого иммунизированного населения и 53,5% среди невакцинированных детей. Среди типизируемых штаммов, выявленных у детей, 70,0% относились к вакцинным (чаще определяли серотипы 19F и 23F), среди взрослых преобладали 3 и 12F/A/B/44/46. **Заключение.** На примере детского неиммунизированного и взрослого иммунизированного населения Свердловской области подтверждена тенденция роста циркуляции на территории РФ нетипируемых штаммов *S. pneumoniae*, что делает актуальными задачи по совершенствованию мониторинга и оптимизации молекулярно-генетических методов идентификации возбудителя с целью дальнейшей разработки современных средств специфической и неспецифической профилактики, включая современные антимикробные средства и отечественную вакцину.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, серотипы/серогруппы, мониторинг циркуляции, Свердловская область
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Болгарова Е. В., Захарова Ю. А., Мухачев И. С. и др. Актуальные серотипы *Streptococcus pneumoniae*, циркулировавшие на территории Свердловской области в 2020–2021 годах. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6):59–64 <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-59-64>

Current *Streptococcus Pneumoniae* Serotypes in Sverdlovsk Region in 2020–2021

EV Bolgarova*¹, YuA Zakharova¹, IS Mukhachev², IA Korotkova¹, IA Ivashchenko¹, AV Ostapchuk¹, OI Mamontov²

¹ Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia

² Federal State-Owned Enterprise «1026 Center of State Sanitary and Epidemiological control», Ministry of Defense of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia

* Для переписки: Болгарова Екатерина Викторовна, научный сотрудник Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (912) 208-59-02, bolgarova_ev@eniivi.ru. ©Болгарова Е. В. и др.

** Ekaterina V. Bolgarova, researcher, laboratory of respiratory viral infections, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор, Ekaterinburg, Russia. +7 (912) 208-59-02, bolgarova_ev@eniivi.ru.

Abstract

Relevance. Studying the spread of individual *S. pneumoniae* serotypes is of special epidemiologic and clinical importance. Sverdlovsk Region with the 20% proportion of community-acquired pneumonia and its proportion among the causes of mortality of up to 70% is of special concern. **Aims.** Studying the features of the *S. pneumoniae* serotype landscape in individual socially significant population groups in Sverdlovsk Region in 2020 and 2021. **Materials and methods.** The work presents the results of testing nasopharyngeal smears collected in two observation groups, namely, that of 159 unvaccinated children aged 0 to 5 with acute respiratory infections (ARI), and that of 392 apparently healthy adults aged 19 to 27. We performed molecular genetic typing for identification of 20 leading *S. pneumoniae* serotypes/serogroups (1, 2, 3, 4, 5, 14, 16F, 19A, 19F, 23A, 23F, 6ABCD, 7AF, 9AV, 9LN, 11AD, 15AF, 18ABCF, 22AF, 12FAB/44/46, 33AF/37) using multiplex polymerase chain reaction (PCR). **Results and discussion.** In the individuals of the studied groups of observation, in 27.0% and 28.1% of the cases the study detected the *S. pneumoniae* in the biological material with circulation of 12 «vaccine» (19F – 2,6%, 6ABCD – 2,6%, 4 – 2,0%, 23F – 2,0%, 9AV – 1,3%, 9LN – 0,6%, 11AD – 1,3%, 18ABCF – 2,0%) and «nonvaccine» (15AF – 0,7%, 16F – 0,6%) serotypes. Nontypable strains with the highest proportion (77.3%) among the immunized adult population were predominant in the structure; in the unvaccinated children, this rate was 53.5%. Among the typable strains in children, 70.0% belonged to the vaccine ones, and most frequently the study identified 19F and 23F serotypes, while serotypes 3 and 12F/A/B/44/46 dominated among the adults. **Conclusion.** The study of unimmunized pediatric and immunized adult populations of Sverdlovsk Region confirmed a trend toward an increase in the circulation of nontypable *S. pneumoniae* strains in the Russian Federation, which sets the agenda to improve the monitoring system and optimize molecular genetic techniques for identification of the pathogens and upgrade the present specific and nonspecific preventive remedies, including the current antimicrobial ones and locally-produced vaccine.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, serotypes/serogroups, monitoring of circulation, Sverdlovsk Region

No conflict of interest to declare.

For citation: Bolgarova EV, Zakharova YuA, Mukhachev IS et al. Current *Streptococcus Pneumoniae* Serotypes in Sverdlovsk Region in 2020–2021. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 59–64 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-59-64>

Введение

Несмотря на наличие эффективных вакцин, пневмококковая инфекция остается актуальной медицинской проблемой в силу серотипового разнообразия пневмококков [1,2]. Более 90 серотипов *S. pneumoniae* идентифицировано по биохимической структуре капсульного полисахарида, что свидетельствует о высокой пластичности и рекомбинантной изменчивости его генома, приводящей на фоне неконтролируемого использования антимикробных средств к формированию устойчивости. Учитывая, что капсула является основным фактором вирулентности возбудителя, серотипирование по капсульному полисахариду необходимо не только для внутривидовой идентификации, но для определения тяжести инфекционного процесса [3,4]. Известно, что распространение актуальных серотипов *S. pneumoniae* на определенных территориях и в отдельных группах населения зависит от возраста, практики применения антибактериальной терапии, клинических проявлений инфекции, демографических характеристик региона, охвата населения вакцинацией, штаммового состава вакцин [5,6]. Результаты исследований, проведенных в разных странах, свидетельствуют, что более 80% наиболее тяжёлых инвазивных случаев пневмококковой инфекции, как правило, обусловлены 20 серотипами, в их числе 13 вызывают до 70–75% случаев манифестных форм. Повышенной устойчивостью к основным классам антибиотиков характеризуются представители серотипов 23, 19 и 6 [4,7]. Наиболее часто инвазивные формы у детей до 5 лет вызывают серотипы

4, 6, 9, 14, 18, 19 и 23, в остальных возрастных группах преобладают 4, 6, 9, 12, 14, 19 и 23 [4,8,9].

Ряд серотипов *S. pneumoniae* (6AB, 9V, 14, 18AC, 19A F и 23F) приводят к тяжёлому течению заболевания, серотипы 1, 7F, 8, 4 и 5 – не осложнённо-му [10]. При этом штаммы, отнесённые к вариантам 6B, 9V, 14, 19A, 19F и 23F, обладают устойчивостью к антибиотикам, что снижает эффективность традиционной этиотропной терапии. Особого внимания заслуживает информация о циркуляции в РФ серотипов 19F, 14, 9VA, 15 AF, 6 ABCD, 3 и 23F [11–14], часть из них не представлена в современных вакцинах (15 AFC; 6 CD; 9A).

Не вызывает сомнений факт, что вакцинация позволяет существенно снизить заболеваемость от пневмококковой инфекции детей раннего возраста (до 3 лет) и лиц старшей возрастной группы (после 65 лет) [15]. Однако, несмотря на значительные успехи, достигнутые в ходе иммунизации, на отдельных территориях возникают новые угрозы, связанные с колонизацией локусов организма человека невакцинными и безкапсульными вариантами *S. pneumoniae* [4]. Особую актуальность в аспекте изучения проблемы имеет Свердловская область, где на долю внебольничных пневмоний в структуре инфекционной заболеваемости (без учета гриппа и острых респираторных инфекций) приходится до 20%, а среди причин смерти – до 70% [12].

Цель работы – изучить особенности серотипового пейзажа *S. pneumoniae*, циркулирующих в Свердловской области среди не вакцинированных детей (от 0 до 5 лет) и вакцинированных взрослых (от 19 до 27 лет).

Материалы и методы

В 2020–2021 гг. в Свердловской области в ходе эпидемиологического наблюдательного описательно-оценочного исследовании проведено изучение циркуляции *S. pneumoniae* в двух группах населения. Обследовано 551 человек, включая 159 детей (первая группа) в возрасте от 0 до 5 лет, находившихся на госпитализации в медицинских организациях г. Екатеринбурга с диагнозом «острая респираторная инфекция (ОРИ)» и 392 взрослых (вторая группа) в возрасте от 19 до 27 лет из организованных коллективов с диагнозом «практически здоров». Все обследованные лица (в случае детского населения их официальные представители) дали письменное информированное согласие на участие в исследовании, прошли анкетирование, в ходе которого установлено, что в первой группе (дети с диагнозом ОРИ) полностью отсутствовала вакцинация от пневмококковой инфекции, во второй группе (взрослые с диагнозом «практически здоров») показатель иммунизации, напротив, составил 100%, использовалась вакцина Пневмовакс 23.

Забор биоматериала (носоглоточные мазки) осуществляли при поступлении детей в стационар в процессе медицинского осмотра, у взрослых – при проведении плановой диспансеризации. Образцы биологического материала после взятия помещали в коммерческие транспортные системы с жидкой питательной средой Амиеса (Deltalab, Испания). Тотальную ДНК выделяли из транспортной среды с использованием набора ДНК-Сорб или «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией изготовителя.

Для подтверждения присутствия генетического материала (нуклеотидных последовательностей) *S. pneumoniae* в биологической пробе проводили

детекцию видоспецифических генов *cpsA* (протеин, участвующий в биосинтезе полисахаридов капсулы) и *lytA* (ген вирулентности, кодирующий фермент аутолизин) методом ПЦР. Серотипирование *S. pneumoniae* методом капсульного ПЦР-типирования включало использование специфической комплексной панели (ФГБУ ДНКЦ ИБ ФМБА, Санкт-Петербург), включающей детекцию 20 ведущих серотипов/серогрупп 1, 2, 3, 4, 5, 14, 16F, 19A, 19F, 23A, 23F, 6ABCD, 7AF, 9AV, 9LN, 11AD, 15AF, 18ABCF, 22AF, 12FAB/44/46, 33AF/37.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием методов описательной статистики Microsoft Excel и STATISTICA 12.0 (StatSoft, США) и определением 95% доверительного интервала по методу Клоппера-Пирсона (точный метод) [95%ДИ]. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

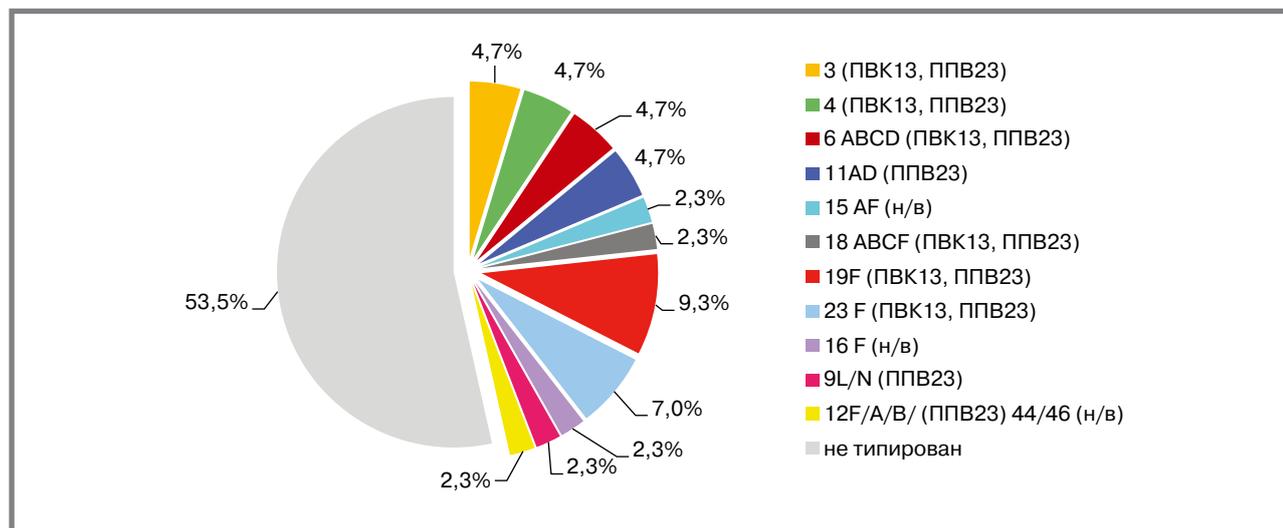
Результаты и обсуждение

При исследовании проб носоглоточных смывов, отобранных у 551 человек, входящих в обе группы наблюдения, ДНК *S. pneumoniae* была обнаружена в 153 образцах, что составило 27,8%. Только в 29,4% положительных проб ($n = 153$), удалось определить серотип *S. pneumoniae* ($n = 45$), возможной причиной было наличие в образцах ДНК серотипов, не включенных в диагностическую панель, присутствие бескапсульных или дефектных штаммов. Всего идентифицировано 12 серотипов/серогрупп *S. pneumoniae*. Наибольшую долю в структуре имели серотип 3 (7,8%) и серогруппа 12F/A/44/46 (5,9%). Были выявлены «вакцинные» (19F – 2,6%, 6ABCD – 2,6%, 4 – 2,0%, 23F – 2,0%, 9AV – 1,3%, 9LN – 0,6%, 11AD – 1,3%, 18ABCF – 2,0%) и «не вакцинные» серотипы (15AF – 0,7%, 16F – 0,6%).

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении доли нетипируемых штаммов *S. pneumoniae*,

Рисунок 1. Серотипы *Streptococcus pneumoniae*, выделенные у невакцинированных детей Свердловской области с диагнозом острая респираторная инфекция, % (2020–2021 гг.)

Figure 1. *Streptococcus pneumoniae* serotypes isolated in unvaccinated children with acute respiratory infections in Sverdlovsk Region, % (2020–2021)



циркулирующих в 2020–2021 гг. на территории Свердловской области относительно 2006–2016 гг. (70,6% против 12,8%, $p < 0,05$), где, по данным ранее проведенных исследований, в группах детского и взрослого населения отмечены наиболее актуальные и значимые в этиологии серотипы 14 (14,7%), 6A/B/C/D (17,3%), 15A/F (13,3%) и 19F (9,3%) [12]. Таким образом, за период наблюдения произошла смена серотипового пейзажа *S. pneumoniae*. В динамике существенно утратили свои основные позиции серотипы 6A/B/C/D (2,6%) и 19F (2,6%), ранее суммарно занимавшие 26,6%, а серотип 14, активно циркулировавший на территории Свердловской области в предшествующий период (14,7%), в 2020–2021 гг. не был выявлен.

В первой группе, включавшей невакцинированных детей с диагнозом ОРИ ($n = 43$), *S. pneumoniae* был обнаружен у 27,0% обследованных. Среди выявленных *S. pneumoniae* 46,5% ($n = 20$) принадлежали к 11 серотипам [ДИ 95%: 31,2–61,9] (рис. 1).

Ведущие ранговые места заняли серотипы 19F (9,3%) и 23F (7,0%). По данным научной литературы известно, что оба ассоциированы с лекарственной устойчивостью, чаще других вызывают инвазивные формы болезни [4,12,15,16].

При сопоставлении серотипов, входящих в состав 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины (чаще используемой при иммунизации детского населения) и серотипов *S. pneumoniae*, циркулирующих в первой группе, установлено 70,0% соответствие (таб. 1).

Таким образом, среди невакцинированных детей с диагнозом ОРИ доминировали серотипы, входящие в состав пневмококковой вакцины.

Во второй группе (вакцинированные взрослые с диагнозом «практически здоров») из 392 проб *S. pneumoniae* выявлен в 28,1% случаев ($n = 110$), из них только в 22,7% [ДИ 95%: 14,9–30,6] определена серотиповая принадлежность ($n = 25$) (рис. 2).

Наибольший удельный вес имел серотип 3 – 9,1%, второй по значимости была серогруппа 12F/A/B/44/46 – 7,3%.

Установлено полное (100%) совпадение серотипов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных во второй группе, с серотипами, входящими в состав 23-валентной конъюгированной полисахаридной пневмококковой вакцины (таб. 2).

Таким образом, во второй группе наблюдалось полное перекрытие выделенных серотипов вакцинными штаммами.

Проведенное исследование позволило установить существенные изменения в серотиповом пейзаже *Streptococcus pneumoniae* в 2020–2021 гг. по сравнению с 2006–2016 гг. в двух группах населения (невакцинированные дети с диагнозом ОРИ и вакцинированные взрослые с диагнозом «практически здоров»). В структуре выделенных серотипов *Streptococcus pneumoniae* доминировали нетипируемые штаммы (70,6% против 12,8%, $p < 0,05$), сменились отдельные представители (с серогрупп 14, 6A/B/C/D, 15A/F и 19F на 3 и 12F/A/44/46), часть серотипов утратили свою актуальность (6A/B/C/D и 19F) или исчезли совсем (14).

Заключение

Анализ серотиповой структуры *S. pneumoniae* в двух группах наблюдения позволил прийти к заключению о существенном и достоверно значимом ($p < 0,001$) преобладании среди взрослого

Таблица 1. Соответствие серотипового пейзажа *Streptococcus pneumoniae* в составе 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины и *Streptococcus pneumoniae* от невакцинированных детей Свердловской области с диагнозом острая респираторная инфекция, % (2020–2021 гг.)
Table 1. Concordance between *Streptococcus pneumoniae* serotype landscape as part of 13-valent conjugated pneumococcal vaccine and *Streptococcus pneumoniae* from unvaccinated children with acute respiratory infections in Sverdlovsk Region, % (2020–2021)

Конъюгированная пневмококковая вакцина Conjugated pneumococcal vaccine	Серотипы <i>S. Pneumoniae</i> Serotypes of <i>S. pneumoniae</i>												
	1	3	4	5	6	7	9	14	18	19	23	не вакцинированные vaccinated	% перекрытия % overlap
	Серотипы у детей с ОРИ, абс (%)												
		2 (10%)	2 (10%)		2 (10%)				1 (5%)	4 (20%)	3 (15%)	6 (30%)	70,0%
13-валентная вакцина 13-valent vaccine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Таким образом, на фоне массовой вакцинопрофилактики от пневмококковой инфекции, прогнозируемый рост циркуляции в человеческой популяции серотипов *S. pneumoniae*, не входящих в состав и не определяемых современными лабораторными методами, делает актуальными задачи по совершенствованию мониторинга за серотиповым пейзажем *S. pneumoniae*, на территориях с высокой заболеваемостью и в группах риска населения (эпидемиологический компонент надзора), оптимизации и расширения мультиплексного серотипирования возбудителя с внедрением новых методов микробиологической и молекулярно-биологической

диагностики (лабораторный компонент надзора). На основе полученных данных и эффективной организации эпидемиологического надзора за пневмококковой инфекцией разработка эффективных методов специфической и неспецифической профилактики, включая современные antimicrobные средства и отечественную пневмококковую вакцину, позволит существенно снизить циркуляцию актуальных клинических изолятов *S. pneumoniae*, общую заболеваемость и тяжелые инвазивные формы инфекции.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-25-20129).

Литература

1. Баранова А. А., Брико Н. И., Намазова-Баранова Л. С. и др. Стрептококки и пневмококки: Руководство для врачей. М.: Феникс; 2013.
2. Ceyhan M., Ozsurekci Y., Güler N., et al. Serotype distribution of Streptococcus pneumoniae in children 102 with invasive diseases in Turkey: 2008–2014 // Human Vaccines Immunotherapeutics. 2016. Vol. 12, N2. P. 308–313.
3. Messaoudi M., Milenkov M., Albrich W.C., et al. The Relevance of a Novel Quantitative Assay to Detect up to 40 Major Streptococcus pneumoniae Serotypes Directly in Clinical Nasopharyngeal and Blood Specimens // PLoS ONE. 2016. Vol. 11, N3.
4. Zariyova A. Z., Bayazitova L. T., Tyupkina O. F. и др. Фенотипические и генотипические свойства Streptococcus pneumoniae при бактерионосительстве // Практическая медицина. 2018. Т. 16, №9. С. 106–112.
5. Feldman C., Anderson R. Epidemiology, virulence factors and management of the pneumococcus. F1000Research. 2016. Vol. 5. 2320.
6. Зайцев А. А., Акимкин В. Г., Брико Н. И. Вакцинопрофилактика пневмококковых инфекций: в фокусе взрослые из организованных коллективов // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2018. №4. С. 72–81.
7. Протасова И. Н., Бахарева Н. В., Перьянова О. В., и др. Смена серотипов Streptococcus pneumoniae у детей, вакцинированных 7-валентной конъюгированной вакциной. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2014. №5 (78). С. 67–71.
8. Намазова-Баранова Л. С., Федосеева М. В., Вишнева Е. А. и др. Теоретические основы и реальные результаты: обзор материалов по вакцинопрофилактике пневмококковой инфекции в мире // Педиатрическая фармакология. 2018. Т. 15, №1. С. 58–74.
9. Брико Н. И., Коршунов В. А., Ломоносов К. С. Пневмококковая инфекция в Российской Федерации: состояние проблемы. Вестник РАМН. 2021. Т. 76, №1. С. 28–42.
10. Белошницкий Г. В., Корольова И. С. Серотиповой пейзаж пневмококков, выделенных при пневмококковом менингите, в Российской Федерации // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2015. №2 (81). С. 19–25.
11. Козлов Р. С., Чагарян А. Н., Козлова Л. В. и др. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001. Т. 13, №2. С. 177–187.
12. Голубкова А. А., Сомова А. В. Роль Streptococcus pneumoniae в этиологии внебольничных пневмоний в крупном промышленном регионе Российской Федерации. Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. №3. С. 29–33.
13. van Gils E.J., Veenhoven R.H., Hak E., et al. Pneumococcal conjugate vaccination and nasopharyngeal acquisition of pneumococcal serotype 19A strains // JAMA. 2010. Vol. 304, N10. P. 1099–1106.
14. Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of Streptococcus pneumoniae // Clin Microbiol Infect. 2009. Vol. 15, Suppl. 3. P. 7–11.
15. Фельдман И. В., Семериков В. В., Голоднова С. О. и др. Результаты серотипирования Str. pneumoniae, циркулирующих на территории г. Перми // Здоровье семьи – 21 век. 2013. Т. 2, №2. С. 200–210.
16. Hausdorff W.P., Bryant J., Paradiso P.R., Siber G.R. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive diseases: implications for conjugate vaccine formulation and use. Clin Infect Dis 2000. Vol. 30, N1. P. 100–121.
17. Маянский Н. А., Алыбаева Н. М., Лазарева А. В. и др. Серотиповое разнообразие и резистентность пневмококков. Вестник Российской академии медицинских наук. 2014. Т. 69, №7–8. С. 38–45.
18. Hausdorff W.P., Feikin D.R., Klugman K.P. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. Lancet Infect Dis 2005. Vol. 5. P. 83–93.

References

1. Baranova A.A., Briko N.I., Namazova-Baranova L.S., et al. Streptococci and pneumococci: Manual for doctors. Moscow: Feniks; 2013 (In Russ).
2. Ceyhan M., Ozsurekci Y., Güler N., et al. Serotype distribution of Streptococcus pneumoniae in children 102 with invasive diseases in Turkey: 2008–2014. Human Vaccines Immunotherapeutics. 2016. Vol. 12, N2. P. 308–313. doi: 10.1080/21645515.2015.1078952
3. Messaoudi M., Milenkov M., Albrich W.C., et al. The Relevance of a Novel Quantitative Assay to Detect up to 40 Major Streptococcus pneumoniae Serotypes Directly in Clinical Nasopharyngeal and Blood Specimens. PLoS ONE. 2016. Vol. 11, N3. DOI:10.1371/journal.pone.0151428
4. Zariyova A.Z., Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., et al. Fenotipicheskiye i genotipicheskiye svoystva Streptococcus pneumoniae pri bakterionositel'stve. Prakticheskaya meditsina. 2018; 16 (9):106–112 (In Russ).
5. Feldman C., Anderson R. Epidemiology, virulence factors and management of the pneumococcus. F1000Research. 2016. Vol. 5. 2320. DOI:10.12688/f1000research.92823.1
6. Zaytsev A.A., Akimkin V.G., Briko N.I. Vaksinooprofilaktika pnevmokokkovykh infektsiy: v fokuse vzroslye iz organizovannykh kollektivov. Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni. Aktualnyye voprosy. 2018; (4):72–81 (In Russ). DOI: https://dx.doi.org/10.18565/epidemiol.2018.4.72–81
7. Protasova I.N., Bahareva N.V., Per'yanova O.V., et al. Smena serotipov Streptococcus pneumoniae u detey, vaksinirovannykh 7-valentnoi konjugirovannoy vaksiny. Epidemiologiya i vaksinooprofilaktika; 2014. No. 5 (78). P. 67–71. (In Russ).
8. Namazova-Baranova L.S., Fedoseienko M.V., Vishneva E.A., et al. Teoreticheskiye osnovy i real'nyye rezul'taty: obzor materialov po vaksinooprofilaktike pnevmokokkovoy infektsiyi v mire. Pediatricheskaya farmakologiya. 2018; 15(1): 58–74 (In Russ). doi: 10.15690/pfv15i1.1844
9. Briko N.I., Korshunov V.A., Lomonosov K.S. Pnevmokokkovaya infektsiya v Rossiyskoi Federatsiyi: sostoyaniye problemy. Vestnik RAMN. 2021; 76(1): 28–42 (In Russ). doi: https://doi.org/10.15690/vramn1404
10. Beloshitskiy G.V., Korolyova I.S. Serotipovoy peizazh pnevmokokkov, vydelennykh pri pnevmokokkovom meningite, v Rossiyskoi Federatsiyi. Epidemiologiya i vaksinooprofilaktika; 2015. No.2 (81). P. 19–25 (In Russ).
11. Kozlov R.S., Chagarian A.N., Kozlova L.V., et al. Serologicheskaya harakteristika i chuvstvitel'nost k antibiotikam pnevmokokkov, vydelennykh u detey v vozraste do 5 let v otdel'nykh regionakh Rossiyskoy Federatsii. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimirnaya himioterapiya. 2001; 13(2):177–187 (In Russ).
12. Golubkova A.A., Somova A.V. Rol' Streptococcus pneumoniae v etiologii vnebol'nychnykh pnevmoniy v крупном промышленном регионе Rossiyskoy Federatsiyi. Tihookeanskiy meditsinskiy zhurnal. 2018. No. 3. P. 29–33 (In Russ).
13. van Gils E.J., Veenhoven R.H., Hak E., et al. Pneumococcal conjugate vaccination and nasopharyngeal acquisition of pneumococcal serotype 19A strains. JAMA. 2010. Vol. 304, N10. P. 1099–1106. DOI:10.1001/jama.2010.1290
14. Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of Streptococcus pneumoniae. Clin Microbiol Infect. 2009. Vol. 15, Suppl. 3. P. 7–11. DOI:10.1111/j.1469-0691.2009.02724.x
15. Feldblum I.V., Semerikov V.V., Golodnova S.O. et al. Rezul'taty serotipirovaniya Str. pneumoniae, tsirkuliruyushchih na territoriyi g. Permi. Zdorov'ye sem'yi – 21 vek. 2013; 2(2): 200–210 (In Russ).
16. Hausdorff W.P., Bryant J., Paradiso P.R., Siber G.R. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive diseases: implications for conjugate vaccine formulation and use. Clin Infect Dis 2000. Vol. 30, N1. P. 100–121. DOI:10.1086/313608
17. Mayanskiy N.A., Alyabayeva N.M., Lazareva A.V., et al. Serotipovoye raznoobrazie i rezistentnost' pnevmokokkov. Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskih nauk. 2014; 69 (7–8): 38–45 (In Russ).
18. Hausdorff W.P., Feikin D.R., Klugman K.P. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. Lancet Infect Dis 2005. Vol. 5. P. 83–93. DOI 10.1016/S1473-3099(05)70083-9

Об авторах

- **Екатерина Викторовна Болгарова** – научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций, Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. +7 (912) 208-59-02, bolgarova_ev@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6140-2546.
- **Юлия Александровна Захарова** – д. м. н., заместитель руководителя по научной работе, главный научный сотрудник Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. +7 (912) 643-50-60, zakharova_ya@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3416-0902.
- **Иван Семенович Мухачев** – начальник центра, Федеральное государственное казенное учреждение «1026 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора» Министерства обороны Российской Федерации, Екатеринбург, Россия. +7 (912) 260-61-31, faust.78@mail.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0003-2669-7144.
- **Инна Александровна Короткова** – младший научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций, Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. +7 (914) 463-49-10, korotkova_ia@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5074-7925.
- **Иван Александрович Ивашченко** – старший лаборант лаборатории клеточных культур, Екатеринбургского Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. +7 (922) 100-46-90, chizarp@mail.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0002-3584-9528.
- **Анна Владимировна Остапчук** – младший научный сотрудник, Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. +7 (982) 773-16-96, ostapchuk_ava@enivi.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0002-8157-6866.
- **Олег Игоревич Мамонтов** – начальник отдела, Федеральное государственное казенное учреждение «1026 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора» Министерства обороны Российской Федерации, Екатеринбург, Россия. +7 (982) 735-24-25, evildoc47@gmail.ru.

Поступила: 13.07.2022. Принята к печати: 14.10.2022.
Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Ekaterina V. Bolgarova** – researcher, laboratory of respiratory viral infections, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia. +7 (912) 208-59-02, bolgarova_ev@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6140-2546.
- **Yulia A. Zakharova** – Dr. Sci. (Med.), deputy Head of Scientific work, head researcher, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia. +7 (912) 643-50-60, zakharova_ya@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3416-0902.
- **Ivan S. Mukhachev** – head of the center, Federal State-Owned Enterprise «1026 Center of State Sanitary and Epidemiological control», Ministry of Defense of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia. +7 (912) 260-61-31, faust.78@mail.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0003-2669-7144.
- **Korotkova Inna A.** – junior researcher, laboratory of respiratory viral infections, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia. +7 (914) 463-49-10, korotkova_ia@enivi.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5074-7925.
- **Ivan A. Ivashchenko** – senior technician, cell culture laboratory, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia. +7 (922) 100-46-90, chizarp@mail.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0002-3584-9528.
- **Anna V. Ostapchuk** – junior researcher, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rosпотребнадзор (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being), Ekaterinburg, Russia. +7 (982) 773-16-96, ostapchuk_ava@enivi.ru. ORCID https://orcid.org/0000-0002-8157-6866.
- **Oleg I. Mamontov** – department head, Federal State-Owned Enterprise «1026 Center of State Sanitary and Epidemiological control», Ministry of Defense of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia. +7 (982) 735-24-25, evildoc47@mail.ru.

Received: 13.07.2022. Accepted: 14.10.2022.
Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-65-81>

Иммуногенность и безопасность четырёхвалентной менингококковой вакцины, конъюгированной со столбнячным анатоксином (MenACYW-TT), при одновременном введении с пневмококковой конъюгированной вакциной здоровым детям раннего возраста в Российской Федерации: рандомизированное исследование фазы III

Л. С. Намазова-Баранова¹, О. А. Перминова², Т. А. Романова³, В. В. Романенко⁴,
А. Н. Галустян⁵, В. Н. Городин⁶, И. В. Осипова⁷, В. Ю. Родникова⁸, С. М. Харит⁹,
Ю. В. Ковширина¹⁰, В. А. Анохин¹¹, С. Б. Чир¹², Д. Невё¹³, М. Бонапарт¹⁴, Г. Аньес^{15*},
Э. Йорданов¹⁵, М. С. Дхингра¹⁵, А. В. Гольдштейн^{*16}

¹ Институт педиатрии, Центральная клиническая больница РАН, Москва, Россия

² Детская городская клиническая поликлиника №5, г. Пермь, Россия

³ Самарская областная детская клиническая больница, г. Самара, Россия

⁴ Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия

⁵ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
компания «Медицинские технологии ЛТД», Санкт-Петербург, Россия

⁶ Краснодарский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Россия

⁷ Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия, ООО
«АСКО-МЕД-ПЛЮС», г. Барнаул, Россия

⁸ Медицинский центр «Губернский лекарь», г. Мурманск, Россия

⁹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург,
Россия

¹⁰ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

¹¹ Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

¹² Глобальный департамент биостатистики, Санофи, Марси-л'Этуаль, Франция

¹³ Глобальный департамент фармаконадзора, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания,
США

¹⁴ Глобальный департамент клинической иммунологии, Санофи, Свифтуотер,
Пенсильвания, США

¹⁵ Глобальный департамент стратегии клинической разработки, Санофи,
Свифтуотер, Пенсильвания, США

¹⁶ Медицинский отдел, Санофи, Москва, Россия

* Для переписки: Гольдштейн Александр Валерьевич, ведущий медицинский эксперт, Санофи, Россия, 101000, г. Москва, ул. Тверская, 22.
+7 (916) 944-85-34, alexander.goldstein@sanofi.com. ©Намазова-Баранова Л. С. и др.

Резюме

Актуальность. Генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ) характеризуются тяжёлым течением и высокой летальностью, а наиболее высокому риску заболевания ими подвержены дети первого года жизни и дети младшего возраста. **Цель.** Представить не опубликованные на русском языке данные, дополнив их, по иммуногенности и безопасности вакцины MenACYW-TT и 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (PCV13) при их совместном введении здоровым российским детям в возрасте 12–23 месяца, ранее не получавшим менингококковую вакцину. **Материалы и методы.** В открытом рандомизированном исследовании фазы III с участием детей в возрасте 12–23 месяца изучена иммуногенность и безопасность MenACYW-TT – конъюгированной со столбнячным анатоксином вакцины для профилактики инфекций, вызываемых менингококками серогрупп А, С, W и Y – при её совместном введении с вакцинами для детей (вакциной для профилактики кори, эпидемического паротита и краснухи [MMR] и вакциной для профилактики ветряной оспы [V] в Южной Корее и Таиланде, 6-в-1 комбинированной вакциной для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша, полиомиелита, гепатита В и инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* типа b, [DTaP-IPV-HepB-Hib] в Мексике и пневмококковой конъюгированной вакциной [PCV13] в Российской Федерации (NCT 03205371)). В данной статье приведены результаты той части представленного исследования, которая была проведена в Российской Федерации, в котором изучаемая вакцина вводилась одновременно с вакциной PCV13. **Результаты.** Иммуногенность в отношении менингококков каждой серогруппы оценивали методом количественного анализа сывороточных бактерицидных антител (СБА) с использованием комплемента человека (чСБА) и, в подгруппе участников, комплемента крольчат (кСБА). Профили безопасности вакцин описывали вплоть до 30 дней после вакцинации. В общей сложности в исследовании включили 1183 участника, из которых 400 были из Российской Федерации. Доли участников с серопротекцией (чСБА $\geq 1:8$) в отношении каждой из серогрупп менингококков через 30–44 день после вакцинации в группах участников, получивших MenACYW-TT или MenACYW-TT + PCV13, были сопоставимыми ($\geq 91\%$ и $\geq 84\%$ соответственно). Профили безопасности вакцин MenACYW-TT и PCV13 при введении по отдельности или совместно были в целом сопоставимыми. **Вывод.** Совместное введение вакцины MenACYW-TT и пневмококковой конъюгированной вакцины детям раннего возраста не оказывало клинически значимого влияния на иммуногенность и безопасность каждой из вакцин. **Ключевые слова:** вакцина, менингококк MenACYW-TT, одновременная вакцинация, PCV13, иммуногенность, безопасность **Конфликты интересов:** А. Гольдштейн, М. С. Дингра, Э. Йорданов, Г. Аньес, С. Б'Чир и М. Бонапарт являются (или являлись) сотрудниками компании Санофи и могут быть держателями акций и/или фондовых опционов компании. Остальные авторы заявляют об отсутствии информации для раскрытия.

Для цитирования: Намазова-Баранова Л. С., Перминова О. А., Романова Т. А. и др. Иммуногенность и безопасность четырёхвалентной менингококковой вакцины, конъюгированной со столбнячным анатоксином (MenACYW-TT), при одновременном введении с пневмококковой конъюгированной вакциной здоровым детям раннего возраста в Российской Федерации: рандомизированное исследование фазы III. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(6): 65–81. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-65-81>

Финансирование

Спонсором исследования была компания Санофи.

Благодарность

Авторы хотели бы поблагодарить участников исследования и их семьи, исследовательские группы всех исследовательских центров, а также исследовательскую группу компании Санофи, в особенности Дженнифер Кинсли (Jennifer Kinsley), Эми Стрикланд (Amy Strickland), Ирину Фигурину (Irina Figurina), Изабель Лакруа (Isabelle Lacroix), Сеона Бинь Ли (Seong Bin Lee), Александру Кироз (Alexandra Quiroz), Сури Сатаявизит (Suree Satayavisit) и Ольгу Лябис (Olga Lyabis).

Авторы также благодарят группу Службы общественного здравоохранения Англии, Манчестер, Великобритания за выполненные лабораторные анализы, результаты которых использовались в исследовании.

Immunogenicity and Safety of a Quadrivalent Meningococcal Tetanus Toxoid-Conjugate Vaccine (MenACYW-TT) Administered Concomitantly with Pneumococcal Conjugate Vaccine in Healthy Toddlers in the Russian Federation: a Phase III Randomized Study

LS Namazova-Baranova¹, OA Perminova², TA Romanova³, VV Romanenko⁴, AN Galustyan⁵, VN Gorodin⁶, IV Osipova⁷, VYu Rodnikova⁸, SM Kharit⁹, YuV Kovshirina¹⁰, VA Anokhin¹¹, S B'Chir¹², D Neveu¹³, M Bonaparte¹⁴, G Áñez^{15*}, E Jordanov¹⁵, MS Dhingra¹⁵, AV Goldstein¹⁶

¹Institute of Pediatrics, Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Science, Moscow, Russia

²Children's City Outpatient Clinic No. 5, Perm, Russia

³Samara Regional Children's Hospital, Samara, Russia

⁴Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

⁵Saint-Petersburg State Pediatric Medical University; Medical Technologies LTD, St. Petersburg, Russia

⁶Krasnodar State Medical University, Krasnodar, Russia

* For correspondence: Goldstein Alexander V., leading medical expert, Sanofi, Russia. 22, Tverskaya, Moscow, 101000, Russia. +7 (916) 944-85-34, alexander.goldstein@sanofi.com. ©LS Namazova-Baranova, et al.

⁷ Altai State Medical University, Barnaul, Russia; LLC ASKO-MED-PLUS (Institution), Barnaul, Russia

⁸ «Gubernsky Lekar» Outpatient Clinic, Murmansk, Russia

⁹ Pediatric Research and Clinical Center for Infection Diseases, Saint Petersburg, Russia

¹⁰ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

¹¹ Kazan State Medical University, Kazan, Russia

¹² Global Biostatistical Sciences, Sanofi, Marcy l'Etoile, France

¹³ Global Pharmacovigilance, Sanofi, Swiftwater, PA, USA

¹⁴ Global Clinical Immunology, Sanofi, Swiftwater, PA, USA

¹⁵ Global Clinical Development Strategy, Sanofi, Swiftwater, PA, USA

¹⁶ Medical Affairs, Sanofi, Moscow, Russia

Abstract

Relevance. Invasive meningococcal disease (IMD) has high morbidity and mortality, with infants and young children among those at greatest risk. **Materials & Methods.** A phase III, open-label, randomized study in toddlers aged 12–23 months evaluated the immunogenicity and safety of MenACYW-TT, a tetanus toxoid conjugated vaccine against meningococcal serogroups A, C, W, and Y, when coadministered with paediatric vaccines (measles, mumps and rubella [MMR]; varicella [V] in South Korea and Thailand; 6-in-1 combination vaccine against diphtheria, tetanus, pertussis, polio, hepatitis B and Haemophilus influenzae type b [DTaP-IPV-HepB-Hib] in Mexico and pneumococcal conjugate vaccine [PCV13]) in the Russian Federation (NCT03205371). This manuscript reports the outcome of the part of the study conducted in the Russian Federation using PCV13 as the co-administered vaccine. Immunogenicity to each meningococcal serogroup was assessed by serum bactericidal antibody assay using human complement (hSBA) and, for a subset of subjects, baby rabbit complement (rSBA). Vaccine safety profiles were described up to 30 days post-vaccination. **Results.** A total of 1,183 participants were enrolled in the study, out of which 400 were from the Russian Federation. The proportion with seroprotection (hSBA $\geq 1:8$) to each meningococcal serogroup at Day 30 was comparable between the MenACYW-TT and MenACYW-TT + PCV13 groups ($\geq 91\%$ and $\geq 84\%$, respectively). The safety profiles of MenACYW-TT and PCV13, when given alone or concomitantly, were generally comparable. **Conclusion.** Coadministration of MenACYW-TT with pneumococcal conjugate vaccine in toddlers had no clinically relevant effect on the immunogenicity and safety of any of the vaccines.

Keywords: vaccine, meningococcal, MenACYW-TT, simultaneous administration, pneumococcal conjugate vaccine, immunogenicity, safety

Conflict of interest

A. Goldstein, M. S. Dingra, E. Yordanov, G. Agnes, S. B'Chir and M. Bonaparte are (or were) employees of Sanofi and may hold shares and/or stock options in the company. The remaining authors declare that there is no information to disclose.

For citation: Namazova-Baranova LS, Perminova OA, Romanova TA, et al. Immunogenicity and Safety of a Quadrivalent Meningococcal Tetanus Toxoid-Conjugate Vaccine (MenACYW-TT) Administered Concomitantly with Pneumococcal Conjugate Vaccine in Healthy Toddlers in the Russian Federation: a Phase III Randomized Study. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 65–81 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-65-81>

Financing

The study was sponsored by Sanofi.

Acknowledgment

The authors would like to thank the study participants and their families, the research teams from all research centers, and the Sanofi research team, in particular Jennifer Kinsley, Amy Strickland, Irina Figurina, Isabelle Lacroix, Seong Bin Lee, Alexandra Quiroz, Suree Satayavisit and Olga Lyabis. The authors would also like to thank the Public Health England team, Manchester, UK for performing the laboratory tests used in the study.

Введение

Генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ) характеризуются тяжёлым течением и высокой летальностью, а также серьёзными последствиями, особенно у детей [1,2]. Наиболее высокая частота ГФМИ наблюдается у детей в возрасте младше 5 лет, а также у подростков и молодых взрослых, а наиболее высокая смертность характерна для пожилых людей [3]. В Европе заболеваемость ГФМИ медленно снижалась с 2000 г. по 2016 г. В 2016 г. стандартизованная по возрасту заболеваемость составила 0,64 подтверждённых случая на 100 тыс., летальность – 10,4% [4].

Во всём мире большинство случаев ГФМИ вызывают менингококки шести серогрупп (A, B, C, W,

X и Y). Так, в 2017 г. 96% подтверждённых случаев ГФМИ в Европе были вызваны этими серогруппами, из которых 51% случаев были связаны с серогруппой B [4]. Однако относительный вклад каждой из серогрупп в общую заболеваемость ГФМИ отличается в разных странах Европы. В последнее время в нескольких странах наблюдалось увеличение частоты случаев ГФМИ, вызванных серогруппами W и Y [4,5–8]. В 2016 г. на них пришлось 17% и 12% случаев соответственно, а наиболее высокую летальность обуславливала серогруппа W (14%) [4]. На глобальном уровне тенденции заболеваемости ГФМИ также имеют отличия. Так, серогруппы B и Y преобладают в Северной Америке, серогруппы B и C – в Южной Америке, серогруппа B является

наиболее частым возбудителем ГФМИ в Австралии [9]. Рост числа случаев, вызванных серогруппой W, также наблюдается в Канаде и Австралии [10–12].

В Российской Федерации имеет место долгосрочная тенденция к снижению случаев ГФМИ, однако в 2017–2019 гг. был отмечен рост заболеваемости, в частности, в 2019 г. на 33,3% (до 0,75 на 100 тыс. населения) по сравнению с 2016 г. (0,5 на 100 тыс. населения). Летальность от ГФМИ продолжает оставаться на высоком уровне. В 2019 г. она увеличилась до 21%, тогда как в 2010–2013 гг. составляла около 15%, после чего начала стабильно повышаться. Летальность у детей в возрасте младше 4 лет достигала 25%, у подростков в возрасте 15–19 лет – 20%. В 2019 г. ГФМИ чаще вызывались *Neisseria meningitidis* серогруппы C (130 случаев, 21,1% от всех случаев ГФМИ с идентифицированной серогруппой). Серогруппу B чаще изолировали у детей в возрасте младше 4 лет, серогруппу C – у подростков в возрасте 15–19 лет и серогруппу A – у взрослых в возрасте 25–44 года. Следует отметить, что в 30,7% случаев серогруппу установить не удалось (189 штаммов). Кроме того, количество случаев ГФМИ, вызванных менингококками серогруппы W, продолжило расти в 2019 г. Российский референс-центр по мониторингу за бактериальными менингитами отмечал: «Особенности течения эпидемического процесса менингококковой инфекции за последние 3 года свидетельствуют ещё об одном периодическом подъёме заболеваемости [ГФМИ] в Российской Федерации, что указывает на необходимость расширения контингента групп риска для иммунизации современными конъюгированными вакцинами» [13].

Схемы рутинной вакцинации детей первого года жизни, детей раннего возраста и подростков отличаются в разных странах, многие из этих схем включают введение одновременно нескольких вакцин для уменьшения количества визитов к врачу и повышения охвата вакцинацией. В соответствии с таким подходом важно оценивать иммуногенность и безопасность вакцин при их совместном применении. Зарегистрированные менингококковые вакцины делятся на моновалентные и поливалентные. Моновалентные вакцины для профилактики инфекций, вызванных отдельными серогруппами, например, серогруппами A, B и C. К поливалентным относятся 4-валентные вакцины для профилактики менингококковой инфекции, вызванной серогруппами A, B, W и Y.

MenACYW-TT (MenQuadfi®) – вакцина, конъюгированная со столбнячным анатоксином для профилактики инвазивной менингококковой инфекции, вызванной серогруппами A, C, W и Y. В исследованиях с участием детей разного возраста, подростков и взрослых (в том числе в возрасте > 65 лет) показано, что вакцина иммуногенна и хорошо переносится [14–21].

В исследованиях показано, что при совместном введении вакцины MenACYW-TT с вакцинами для профилактики столбняка, дифтерии, коклюша

(Tdap) и вируса папилломы человека (HPV4) подросткам, ранее непривитым от менингококковой инфекции, профили безопасности и иммуногенности вакцины MenACYW-TT и вводимых совместно вакцин были сопоставимыми [21]. Сходным образом, при совместном введении вакцины MenACYW-TT с педиатрическими вакцинами (для профилактики кори, эпидемического паротита и краснухи [MMR], ветряной оспы [V] и шестивалентной вакцины для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша, полиомиелита, гепатита B и инфекции, вызванной *Haemophilus influenzae* типа b, [DTaP-IPV-HebV-Hib] и пневмококковой конъюгированной вакцины [PCV13]) детям второго года жизни, ранее не получавшим менингококковую вакцину, профили безопасности и иммуногенности вакцины MenACYW-TT и вводимых совместно вакцин были сопоставимыми [22].

Цель статьи – представить не опубликованные на русском языке данные, дополнив их, по иммуногенности и безопасности вакцины MenACYW-TT и 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины (PCV13) при их совместном введении здоровым российским детям в возрасте 12–23 месяца, ранее не получавшим менингококковую вакцину.

Так как эти данные не были ранее опубликованы на русском языке, не все российские врачи могли с ними ознакомиться. Кроме того, в данной статье представлены дополнительные данные по безопасности вакцины, которые не были опубликованы ранее [22].

Материалы и методы

Дизайн исследования и участники

Проведено открытое рандомизированное многоцентровое исследование фазы III с активным контролем с участием здоровых детей в возрасте 12–23 месяца, ранее не привитых против менингококковой инфекции, для оценки иммуногенности и безопасности вакцины MenACYW-TT при её совместном введении с вакцинами для детей, которые рутинно используются в Южной Корее, Таиланде, Мексике и Российской Федерации в соответствии с местными программами иммунизации (NCT03205371). Выбор стран был обусловлен специфическими для них рекомендациями по иммунизации, схемами иммунизации и опубликованными данными об охвате вакцинацией. В Южной Корее и Таиланде вакцину MenACYW-TT вводили в разные конечности одновременно с вакцинами MMR и V, в Мексике – с комбинированной вакциной DTaP-IPV-HebV-Hib, в России – с вакциной PCV13. Данное международное исследование проводилось с 7 ноября 2016 г. по 19 июля 2018 г., в Российской Федерации – с 16 января 2017 г. по 15 января 2018 г.

Критерии включения в исследование

Участники должны были быть привиты в соответствии с возрастом, и их родители/опекуны – подписали форму информированного согласия.

Критерии исключения из исследования

Введение любой вакцины в течение 4 недель до первого визита; введение вакцины, запланированное на период исследования, кроме вакцины для профилактики гриппа; включение в другое исследование в течение 4 недель до первого визита; введение любой менингококковой вакцины в анамнезе; менингококковая инфекция в анамнезе; высокий риск менингококкового инфицирования; синдром Гийена-Барре или реакция, подобная феномену Артюса, в анамнезе. Кроме того, участников исключали из группы PCV13, если они уже получили третью (ревакцинирующую) дозу PCV13 (участники должны были получить только две дозы PCV13 на первом году жизни; согласно национальным рекомендациям вакцину PCV13 вводят в возрасте 2, 4 и 15 месяцев).

Распределение участников по группам

Для обеспечения соблюдения местных рекомендаций по иммунизации вакциной PCV13 здоровых детей в возрасте 12–14 и 16–23 месяца, ранее не получавших менингококковую вакцину, включили в группу получающих только вакцину MenACYW-TT, здоровых детей в возрасте 15 месяцев, которые не получили третью дозу вакцины PCV13, рандомизировали в соотношении 2:1 в группы получающих две вакцины одновременно (MenACYW-TT + PCV13) или только вакцину PCV13.

По своему дизайну исследование было открытым, однако выполнявшие серологические исследования сотрудники лаборатории не имели информации о распределении участников по группам на протяжении всего исследования.

Вакцина

MenACYW-TT (Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США) в дозе 0,5 мл, содержащей по 10 мкг каждой серогруппы (A, C, W и Y) и 55 мкг столбнячного анатоксина в качестве белка-носителя. В России совместно с ней вводили вакцину Превенар 13® (Пфайзер Айрленд Фармасьютикалз, Ирландия).

У участников исследования брали образцы крови для оценки иммуногенности на исходном уровне (до вакцинации) и через 30–44 дня после введения вакцины MenACYW-TT.

По окончании исследования участники получили памятку со списком вакцин, рекомендуемых для их возраста Национальным календарем профилактических прививок. Кроме того, после завершения всех проводимых в ходе исследования вакцинаций и визитов участникам, которые были рандомизированы в группу, получившую только вакцину PCV13, предложили зарегистрированную в Российской Федерации 4-валентную менингококковую конъюгированную вакцину в соответствующих ЛПУ, принимавших участие в исследовании. Это было сделано для обеспечения этим участникам равноценного доступа к профилактике ГФМИ.

Данное исследование проведено с соблюдением стандартов, установленных Хельсинкской декларацией и руководством по надлежащей клинической практике (GCP) Международной конференции по гармонизации (ICH), а также местных и/или национальных нормативных документов. В каждом исследовательском центре протокол исследования был проанализирован и одобрен независимым этическим комитетом или экспертным советом организации.

Иммуногенность

Титры функциональных антител против антигенов менингококка измеряли в образцах крови, взятых до вакцинации и в период 30–44 дней после введения вакцины MenACYW-TT, методом количественного анализа сывороточных бактерицидных антител (СБА) с использованием комплемента человека (чСБА) и, в выделенной подгруппе участников, дополнительно с применением комплемента крольчат (кСБА). Анализы выполнялись в Международном департаменте клинической иммунологии (GCI, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США) и в Службе общественного здравоохранения Англии (PHE, Агентство защиты здоровья, Манчестер, Великобритания) соответственно, метод описан в статьях [22,23]. Титры антител против пневмококка измеряли в GCI (Санофи) (см. раздел «Дополнительные методы»).

Первичной конечной точкой данного исследования являлся иммунный ответ против всех четырёх серогрупп менингококка по результатам измерения титров чСБА до вакцинации и через 30 дней (до 44 дней) после неё в виде долей участников с титрами чСБА $\geq 1:8$ (серопротекция) и $\geq 1:4$, значения среднего геометрического титров (СГТ) антител, доли участников с увеличением титра антител после вакцинации в ≥ 4 раза выше уровня до вакцинации и доли участников с серологическим ответом на вакцинацию в день 30 (серологический ответ на вакцинацию определялся, как титр в чСБА после вакцинации $\geq 1:16$ [у участников с титрами до вакцинации $< 1:8$] или титр после вакцинации в ≥ 4 раза выше титра до вакцинации [у участников с титрами до вакцинации $\geq 1:8$]).

Вторичные конечные точки представляли собой оценку иммунного ответа на антигены PCV13 до вакцинации и через 30 дней (до 44 дней) после неё в виде значения среднего геометрического концентрации (СГК) антител, а также доли участников с серопротективными уровнями антител на 30-й день. Дополнительно титры антител против менингококков серогрупп A, C, W и Y оценивали по уровням кСБА до введения вакцины MenACYW-TT и через 30 (до 44) дней после него в подгруппе участников (100 участников, которых случайным образом выбрали из группы совместного введения вакцин MenACYW-TT и PCV13, и 50 участников, которых случайным образом выбрали из группы получивших только вакцину MenACYW-TT).

На исходном уровне (0-й день) и после вакцинации (30-й день) титры всех антител против всех серотипов, входивших в состав пневмококковой вакцины, оценили у всех участников в соответствующих группах исследования.

Безопасность

За участниками наблюдали в течение 30 минут после вакцинации для оценки развития любых не ожидаемых системных нежелательных явлений (НЯ) немедленного типа. Пациентам/законным представителям выдали дневники, цифровые термометры и гибкие линейки для регистрации суточной температуры тела, ожидаемых реакций в месте инъекции и системных реакций в течение 7 дней после вакцинации. Не ожидаемые несерьёзные НЯ регистрировали до 30-го дня, серьёзные НЯ (СНЯ) – на протяжении всего исследования. НЯ, признанные связанными с вакцинацией, регистрировали как нежелательные реакции (НР).

Статистический анализ

Это исследование было описательным и не подразумевало проверку формальной гипотезы. Категориальные данные представлены в виде показателей частоты с 95% доверительными интервалами (ДИ). 95% ДИ точечных оценок вычисляли с использованием нормального приближения для количественных данных и точного биномиального распределения (метод Клоппера-Пирсона) для долей. Для СГТ или СГК 95% ДИ точечных оценок вычисляли с использованием нормального приближения при допущении об их логарифмически нормальном распределении.

Описательная статистика представлена по группам исследования. Анализы иммуногенности выполнялись для завершивших исследование в соответствии с протоколом (PPAS) популяции участников, в которую вошли все участники, которые получили одну дозу исследуемой вакцины, сдали пригодный для оценки образец крови после

вакцинации и не имели значимых отклонений от протокола. Для анализа безопасности (SafAS) использовали данные, полученные в результате оценки поствакцинального периода всех участников исследования, привитых изучаемой вакциной.

Результаты и обсуждение

В общей сложности в России в исследование было включено 400 участников, из которых 200 человек было рандомизировано в группу одновременного введения MenACWY-TT и PCV13, 100 человек – в группу, получившую только MenACWY-TT, и 100 человек – только PCV13 (один участник из данной группы не был привит, поэтому в данной группе вакцинировано 99 человек). Ни один привитой участник не выбыл из исследования. Демографические и исходные характеристики в сформированных группах были сбалансированы (табл. 1).

В группе совместного введения вакцин MenACYW-TT и PCV13 (MenACYW-TT + PCV13) и в группе, получившей только вакцину MenACYW-TT, доли участников с серопротекцией в ЧСБА против каждой из серогрупп менингококка через 30 дней после вакцинации были сопоставимыми (рис. 1А). СГТ ЧСБА против каждой из серогрупп менингококка выросли от исходного уровня к 30-му дню и были сопоставимыми между двумя группами для серогрупп А, W и Y, тогда как СГТ антител против серогруппы А в группе получивших только MenACYW-TT был выше, чем в группе MenACYW-TT + PCV13 (табл. 2). Серологический ответ на вакцину в ЧСБА через 30 дней после вакцинации в указанных группах также был сопоставим (рис. 2). Доли участников с титрами в ЧСБА $\geq 1:8$ и $\geq 1:128$ против каждой из серогрупп менингококка через 30 дней после вакцинации также были сопоставимыми в двух группах (табл. 3).

В обеих группах привитых (MenACYW-TT + PCV13 и только MenACYW-TT) доля участников с увеличением титра ЧСБА через 30 дней после

Таблица 1. Характеристики участников (все рандомизированные участники)
Table 1. Baseline characteristics (all randomized participants)

	MenACYW-TT + PCV13 (N = 200) (SD)	MenACYW-TT (N = 100) (SD)	PCV13 (n = 100) (SD)
Мальчики, n (%) Male, n (%)	122 (61,0)	49 (49,0)	55 (55,0)
Девочки, n (%) Female, n (%)	78 (39,0)	51 (51,0)	45 (45,0)
Средний возраст, месяцы Mean age, months	16,5 (2,36)	16,0 (3,10)	16,3 (2,26)
Медиана возраста, месяцы (диапазон) Median age, months (range)	15,0 (14,0–23,0)	15,0 (12,0–23,0)	15,0 (15,0–23,0)

Примечание: N – количество участников; n – количество участников, соответствующих указанным критериям; PCV13 – пневмококковая конъюгированная вакцина; SD – стандартное отклонение.
Note: N – number of participants; n – number of participants fulfilling the criteria listed; PCV13 – pneumococcal conjugate vaccine; SD – standard deviation.

Таблица 2. Среднее геометрическое значение титра в чСБА на исходном уровне (0-й день) и на 30-й день у участников, рандомизированных в группы MenACWY-TT + PCV13 и MenACWY-TT (PPAS)
Table 2. hSBA geometric mean titres at baseline (Day 0) and Day 30 in participants randomized to MenACWY-TT+PCV13 or MenACWY-TT (PPAS)

Серогруппа Serogroup	Временная точка Timepoint	MenACWY-TT + PCV13 (N = 196)		MenACWY-TT (N = 96)	
		M	СГТ [95% ДИ] GMT[95% ДИ]	M	СГТ [95% ДИ] GMT[95% ДИ]
A	День 0	196	5,99 [5,3–6,76]	96	8,54 [6,47–11,3]
	День 30	196	24,6 [20,2–30,1]	96	49,0 [36,8–65,3]
C	День 0	196	2,77 [2,43–3,16]	96	3,69 [2,84–4,81]
	День 30	196	205 [156–269]	96	309 [218–437]
W	День 0	196	2,93 [2,54–3,38]	96	3,62 [2,73–4,79]
	День 30	196	57,4 [47,9–68,6]	96	57,0 [44,3–73,5]
Y	День 0	196	2,90 [2,56–3,28]	96	3,49 [2,68–4,53]
	День 30	196	139 [111–173]	96	172 [130–229]

Примечание: ДИ – доверительный интервал; СГТ – среднее геометрическое титров;
 чСБА – количественный анализ сывороточных бактерицидных антител с использованием комплемента человека; M – количество участников с действительными результатами серологических исследований; N – количество участников в PPAS; PPAS – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом.
 Note: CI – confidence interval; GMT – geometric mean titre;
 hSBA – serum bactericidal antibody assay using human complement; M – number of participants with valid serology results; N – number of participants in PPAS; PPAS – per protocol analysis set.

Таблица 3. Доля участников с титрами в кСБА $\geq 1:8$ и $\geq 1:128$ на 30-й день из рандомизированных групп MenACWY-TT + PCV13 и MenACWY-TT (подгруппа PPAS-кСБА)
Table 3. Proportion of participants with rSBA titres $\geq 1:8$ and $\geq 1:128$ at Day 30 in participants randomized to MenACWY-TT+PCV13 or MenACWY-TT (PPAS-rSBA subset)

Серогруппа Serogroup	Титр кСБА rSBA titer	MenACWY-TT + PCV13 (N = 100)		MenACWY-TT (N = 46)	
		n/M	% [95% ДИ] %[95% ДИ]	n/M	% [95% ДИ] %[95% ДИ]
A	$\geq 1:8$	93/94	98,9 [94,2–100,0]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
	$\geq 1:128$	90/94	95,7 [89,5–98,8]	45/46	97,8 [88,5–99,9]
C	$\geq 1:8$	92/94	97,9 [92,5–99,7]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
	$\geq 1:128$	92/94	97,9 [92,5–99,7]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
W	$\geq 1:8$	92/94	97,9 [92,5–99,7]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
	$\geq 1:128$	92/94	97,9 [92,5–99,7]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
Y	$\geq 1:8$	93/94	98,9 [94,2–100,0]	46/46	100,0 [92,3–100,0]
	$\geq 1:128$	93/94	98,9 [94,2–100,0]	46/46	100,0 [92,3–100,0]

Примечание: анализ кСБА выполнялся только в подгруппе участников.
 ДИ – доверительный интервал; M – количество участников с действительными результатами серологических исследований; N – количество участников в PPAS;
 n – количество участников, достигших указанной конечной точки;
 PPAS – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом; кСБА – количественный анализ сывороточных бактерицидных антител с использованием комплемента крольчат.
 Note: rSBA was only conducted in a subset of participants. CI – confidence interval;
 M – number of participants with valid serology results; N – number of participants in PPAS; n – number of participants experiencing the endpoint listed; PPAS – per protocol analysis set; rSBA – serum bactericidal antibody assay using baby rabbit complement.

вакцинации в ≥ 4 раза выше исходного уровня была сопоставима для всех четырёх серогрупп (дополнительная таблица S1 в Приложении).

Исходные СГК антител ко всем 13 серотипам вакцины PCV13 в группах участников, привитых MenACWY-TT + PCV13 или только PCV13, были сопоставимыми. Через 30 дней после вакцинации СГК антител выросла в обеих группах и оставалась сопоставимой (табл. 4). Доля участников с концентрацией антител против пневмококка $\geq 0,35$ мкг/мл

через 30 дней после вакцинации составила $\geq 90\%$ для всех серотипов в обеих группах, кроме серотипа 3 ($> 72\%$) (рис. 1B). Доля участников с концентрацией антител против пневмококка $\geq 1,0$ мкг/мл варьировала от 48,2% (серотип 3) до 97,4% (серотип 14) в группе привитых MenACWY-TT + PCV13, и от 38,0% (серотип 3) до 94,6% (серотип 14) – в группе привитых только PCV13 (рис. 1C).

Обзор данных по безопасности представлен в таблице 5. Доли участников, которые

Таблица 4. Среднее геометрическое значение концентрации антител против серотипов пневмококков, входящих в PCV13, на исходном уровне (0-й день) и на 30-й день у участников, рандомизированных в группы MenACYW-TT + PCV13 и PCV13 (PPAS)

Table 4. Geometric mean concentrations for PCV13 vaccine components at baseline (Day 0) and Day 30 in participants randomized to MenACYW-TT+PCV13 or PCV13 (PPAS)

Серотип Serotype	Временная точка Timepoint	MenACYW-TT + PCV13 (N = 196)		PCV13 (N = 92)	
		М	СГК [95% ДИ] ГМС [95% ДИ]	М	СГК [95% ДИ] ГМС [95% ДИ]
1	День 0 Day 0	193	0,867 [0,741–1,01]	92	0,918 [0,713–1,18]
	День 30 Day 30	191	2,33 [1,98–2,75]	92	2,14 [1,63–2,81]
3	День 0 Day 0	193	0,409 [0,341–0,491]	92	0,414 [0,322–0,533]
	День 30 Day 30	191	0,802 [0,664, 0,967]	92	0,773 [0,608–0,983]
4	День 0 Day 0	193	0,604 [0,511–0,715]	92	0,653 [0,507–0,840]
	День 30 Day 30	191	1,97 [1,68–2,31]	92	1,49 [1,15–1,93]
5	День 0 Day 0	193	0,828 [0,719–0,953]	92	0,782 [0,610–1,00]
	День 30 Day 30	191	1,99 [1,70–2,31]	92	1,73 [1,33–2,24]
6A	День 0 Day 0	193	1,61 [1,33–1,95]	92	1,48 [1,09–2,00]
	День 30 Day 30	191	5,96 [4,99–7,13]	92	6,13 [4,47–8,41]
6B	День 0 Day 0	193	0,895 [0,715–1,12]	92	0,691 [0,514–0,929]
	День 30 Day 30	191	3,66 [2,99–4,50]	92	2,57 [1,83–3,61]
7F	День 0 Day 0	193	1,32 [1,12–1,55]	92	1,39 [1,08–1,77]
	День 30 Day 30	191	3,05 [2,59–3,58]	92	2,67 [2,05–3,47]
9V	День 0 Day 0	193	0,841 [0,710–0,997]	92	0,863 [0,660–1,13]
	День 30 Day 30	191	2,34 [1,95–2,81]	92	2,52 [1,92–3,30]
14	День 0 Day 0	192	3,25 [2,74–3,86]	92	3,00 [2,30–3,91]
	День 30 Day 30	191	7,62 [6,56–8,83]	92	6,30 [5,00–7,93]
18C	День 0 Day 0	193	0,737 [0,620–0,876]	92	0,995 [0,766–1,29]
	День 30 Day 30	191	2,19 [1,87–2,58]	92	2,21 [1,73–2,83]
19A	День 0 Day 0	193	1,65 [1,36–2,01]	92	1,96 [1,46–2,64]
	День 30 Day 30	191	5,75 [4,85–6,80]	92	5,91 [4,54–7,69]
19F	День 0 Day 0	193	1,78 [1,43–2,21]	92	1,74 [1,28–2,35]

Таблица 4. Продолжение
Table 4. Continuation

Серотип Serotype	Временная точка Timepoint	MenACYW-TT + PCV13 (N = 196)		PCV13 (N = 92)	
		M	СГК [95% ДИ] GMC [95% ДИ]	M	СГК [95% ДИ] GMC [95% ДИ]
	День 30 Day 30	191	5,58 [4,57–6,81]	92	5,53 [3,98–7,69]
23F	День 0 Day 0	192	0,631 [0,519–0,768]	92	0,733 [0,537–1,00]
	День 30 Day 30	191	2,42 [2,04–2,86]	92	2,58 [1,98–3,37]

Примечание: ДИ – доверительный интервал; СГК – среднее геометрическое концентрации; M – количество участников с действительными результатами серологических исследований; N – количество участников в PPAS. PPAS – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом.

Note: CI – confidence interval; GMT – geometric mean titre; M, number of participants with valid serology results; N – number of participants in PPAS; PPAS – per protocol analysis set.

сообщили по меньшей мере об одной ожидаемой нежелательной реакции составили 36,5% (73/200) в группе MenACYW-TT + PCV13, 28,0% (28/100) в группе MenACYW-TT и 17,2% (17/99) в группе PCV13. Большая часть ожидаемых реакций были 1-й или 2-й степени выраженности (Шкалы для оценки степени выраженности описаны в дополнительной таблице S2 в Приложении). В группе привитых MenACYW-TT + PCV13 ожидаемые реакции в месте инъекции были зарегистрированы у 26,0% (52/200) привитых в месте введения MenACYW-TT и у 28,0% (56/200) привитых на введение PCV13. Самыми частыми ожидаемыми реакциями в месте инъекции после введения вакцин MenACYW-TT или PCV13 была эритема (в месте инъекции вакцины MenACYW-TT – 21,5% (43/200) в группе привитых MenACYW-TT + PCV13 и 17,0% (17/100) в группе MenACYW-TT; в месте инъекции вакцины PCV13 – 24,0% (48/200) в группе MenACYW-TT + PCV13 и 8,1% (8/99) в группе PCV13). Ожидаемые реакции в месте инъекции, возникшие в течение семидневного периода после вакцинации, с разбивкой по максимальной степени выраженности, представлены в дополнительной таблице S3 в Приложении. Доля участников, которые сообщили по меньшей мере об одной ожидаемой системной реакции, составила 20,0% (40/200) в группе MenACYW-TT+ PCV13, 19,0% (19/100) – в группе MenACYW-TT и 10,1% (10/99) – в группе PCV13. Наиболее частой ожидаемой системной реакцией была раздражительность (13,0% (26/200) в группе MenACYW-TT + PCV13, 16,0% (16/100) в группе MenACYW-TT и 9,1% (9/99) в группе PCV13). Ожидаемые системные реакции, возникшие в течение 7-дневного периода после вакцинации, с разбивкой по максимальной степени выраженности, представлены в дополнительной таблице S4 в Приложении.

О НЯ немедленного типа не сообщалось, ни один из участников не прекратил участия в исследовании

вследствие НЯ или НР, ни у одного из участников не развилось СНЯ. Случаи смерти не зарегистрированы.

Совместное введение вакцины MenACYW-TT и 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины здоровым российским детям раннего возраста не оказывало клинически значимого влияния на иммуногенность и безопасность обеих вакцин по сравнению с их отдельным введением. Иммунный ответ в группе детей, привитых вакциной MenACYW-TT, был сопоставим с иммунным ответом, наблюдавшимся в предыдущем исследовании вакцины MenACYW-TT с участием здоровых детей раннего возраста [20].

Оценка возможности одновременного введения вакцин для детей является важной задачей, поскольку совместное введение разных вакцин в рамках календарей вакцинации детей широко практикуется во всем мире с целью уменьшения количества визитов и своевременности и полноты охвата рутинными прививками. Более ранние данные свидетельствуют о возможном взаимодействии между белками-носителями, входящими в состав конъюгированных вакцин, и другими вакцинными антигенами, что может повлиять на иммуногенность и безопасность вакцин при их совместном применении [24,25]. Совместное введение зарегистрированных в мире четырёхвалентных менингококковых вакцин (конъюгированных с модифицированным дифтерийным [CRM] или столбнячным анатоксином) с рутинно применяемыми вакцинами для детей не оказывает клинически значимого влияния на их иммуногенность и безопасность [26–28]. Результаты данного исследования подтверждают имеющийся опыт отсутствия клинически значимого влияния на иммуногенность и безопасность конъюгированной со столбнячным анатоксином вакцины MenACYW-TT и пневмококковой конъюгированной вакцины.

Введение вакцины MenACYW-TT является безопасным у детей в возрасте 12–23 месяца, ранее

Таблица 5. Данные по безопасности у участников, рандомизированных в группы MenACYW-TT + PCV13, MenACYW-TT и PCV13 (SafAS)

Table 5. Safety overview in participants randomized to MenACYW-TT+PCV13, MenACYW-TT and PCV13 (SafAS)

	MenACYW-TT + PCV13 (N = 200)		MenACYW-TT (N = 100)		PCV13 (N = 99)	
	n/M	% [95% ДИ] % [95% CI]	n/M	% [95% ДИ] % [95% CI]	n/M	% [95% ДИ] % [95% CI]
Спонтанно сообщенное НЯ немедленного типа Immediate unsolicited AE	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 [0,0–3,7]
Ожидаемая реакция Solicited reaction	73/200	36,5 [29,8–43,6]	28/100	28,0 [19,5–37,9]	17/99	17,2 [10,3–26,1]
Ожидаемая реакция в месте инъекции* Solicited injection site reaction*	63/200	31,5 [25,1–38,4]	19/100	19,0 [11,8–28,1]	13/99	13,1 [7,2–21,4]
Ожидаемая системная реакция Solicited systemic reaction	40/200	20,0 [14,7–26,2]	19/100	19,0 [11,8–28,1]	10/99	10,1 [5,0–17,8]
Спонтанно сообщенное НЯ Unsolicited AE	17/200	8,5 [5,0–13,3]	13/100	13,0 [7,1–21,2]	8/99	8,1 [3,6–15,3]
Спонтанно сообщенная НР Unsolicited AR	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 (0,0–3,7)
НЯ, приведшее к прекращению участия в исследовании AE leading to study discontinuation	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 [0,0–3,7]
НР, приведшая к прекращению участия в исследовании AR leading to study discontinuation	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 (0,0–3,7)
СНЯ SAE	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 (0,0–3,7)
Смерть Death	0/200	0,0 [0,0–1,8]	0/100	0,0 [0,0–3,6]	0/99	0,0 (0,0–3,7)

Примечание: НЯ – нежелательное явление; НР – нежелательная реакция; ДИ – доверительный интервал; М – количество участников, имевших данные для соответствующей конечной точки; n – количество участников, имевших соответствующую конечную точку; СНЯ – серьезное нежелательное явление; SafAS, популяция для анализа безопасности.

*В таблице указано общее количество ожидаемых реакций в двух местах введения в группе совместного введения вакцин MenACYW-TT и PCV13.

Note: AE – adverse event; AR – adverse reaction; CI – confidence interval; M – number of participants with data available for the relevant endpoint; n – number of participants fulfilling the relevant endpoint; SAE – serious adverse event; SafAS – safety analysis set.

*Solicited injection site reactions in the table are from the two injection sites combined in the study group where both MenACYW-TT and PCV13 vaccines were administered.

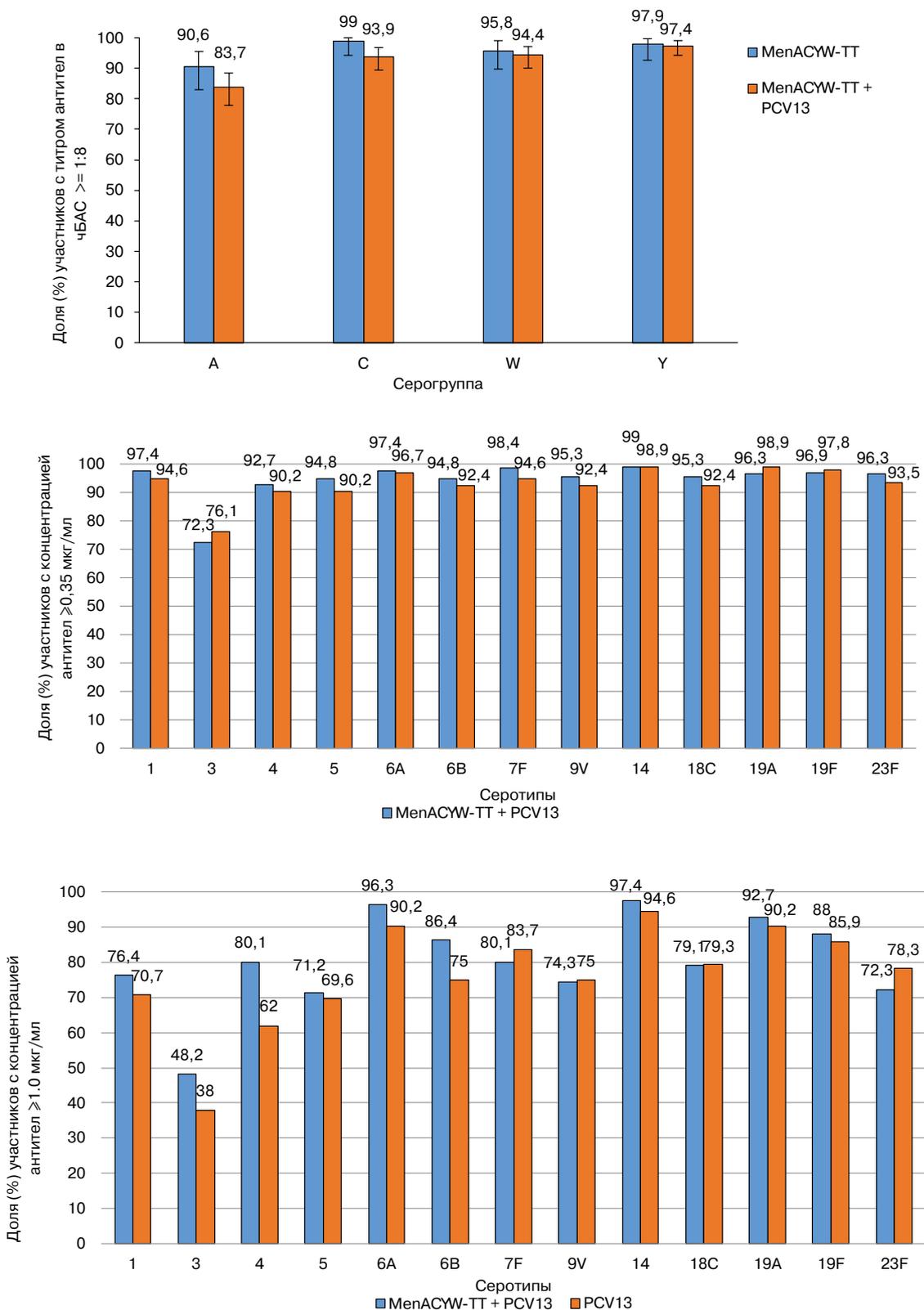
не получавших менингококковую вакцину, при её введении отдельно или совместно с зарегистрированной вакциной PCV13. Ожидаемые нежелательные реакции были преимущественно 1-й (лёгкой) или 2-й (средней) степени выраженности, а НЯ немедленного типа или НЯ, приведших к прекращению участия в исследовании, не отмечены. СНЯ также не наблюдались.

При совместном введении вакцин PCV13 и MenACYW-TT наблюдалась тенденция к более высокой частоте ожидаемых реакций в месте инъекции и системных реакций, однако они, включая реакции 3-й степени выраженности, оставались нечастыми.

В данном исследовании более низкие СГТ в ЧСБА против серогруппы А наблюдались при совместном введении вакцин MenACYW-TT и PCV13 по сравнению с введением только вакцины MenACYW-TT. Такое явление отсутствовало при анализе данных по частоте серопротекции (титры ЧСБА после вакцинации $\geq 1:8$), которая была высокой в обеих группах, и при оценке иммунного ответа методом КСБА. Поскольку эта закономерность была характерна только для СГТ в ЧСБА и не наблюдалась больше ни для одной из других конечных точек (как в ЧСБА, так и в КСБА), клиническая значимость этих данных, по-видимому, минимальна. Сходное наблюдение более низкого СГТ в КСБА

Рисунок 1. Доли участников с (А) титрами в ЧСБА против менингококка $\geq 1:8$ и концентрациями антител против пневмококка (В) $\geq 0,35$ мкг/мл и (С) $\geq 1,0$ мкг/мл, включая серотипы 1, 3, 4, 5, 6А, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19А, 19F и 23F на 30-й день у участников из рандомизированных групп по вакцинам MenACW-TT + PCV13, MenACW-TT и PCV13 (PPAS)

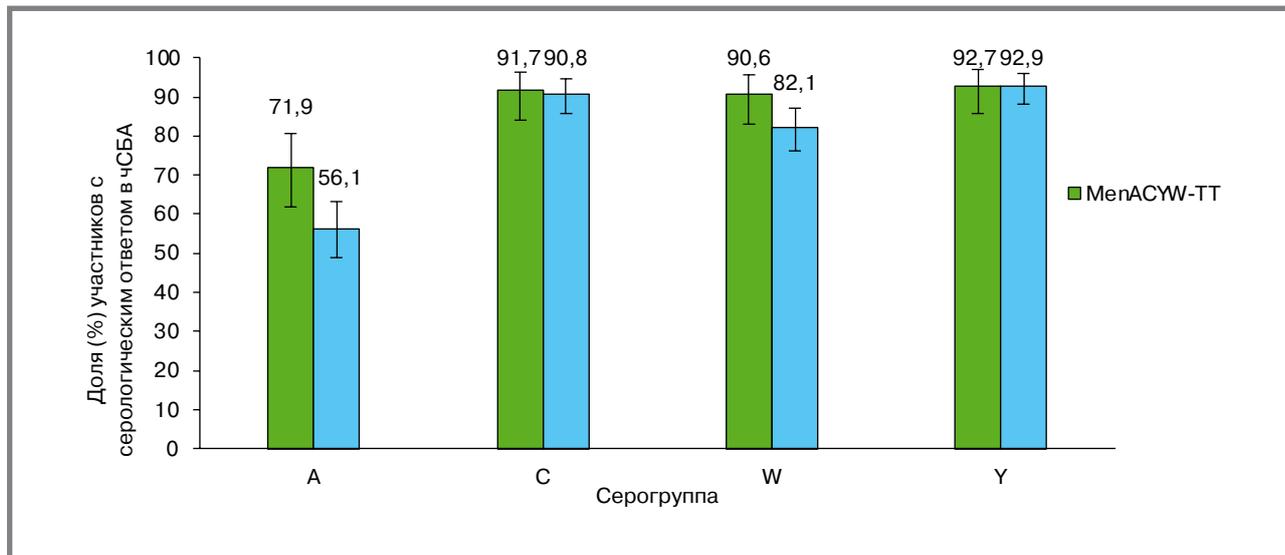
Figure 1. Proportion of participants with (A) hSBA meningococcal titres $\geq 1:8$, and anti-pneumococcal antibody concentrations (B) $\geq 0.35 \mu\text{g/mL}$ and (C) $\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$ to serotypes 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F and 23F at Day 30 in participants randomized to MenACW-TT+PCV13, MenACW-TT and PCV13 (PPAS)



Примечание: ЧСБА – количественный анализ сывороточных бактерицидных антител с использованием комплемента человека; вакцина; PPAS – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом.
 Note: hSBA – serum bactericidal antibody assay using human complement; PPAS – per-protocol analysis set.

Рисунок 2. Серологический ответ на вакцину* в чСБА в день 30 у участников, рандомизированных в группы вакцин MenACYW-TT+PCV13 и MenACYW-TT (PPAS)

Figure 2. hSBA vaccine seroresponse* at Day 30 in participants randomized to MenACYW-TT+PCV13 and MenACYW-TT (PPAS)



Примечание: чСБА – количественный анализ сывороточных бактерицидных антител с использованием комплемента человека; PPAS – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом. *Серологический ответ на вакцину определялся как титр чСБА после вакцинации $\geq 1:16$ (у участников с титрами до вакцинации $< 1:8$) или как увеличение титра после вакцинации ≥ 4 раза по сравнению с титром до вакцинации (у участников с титрами до вакцинации $\geq 1:8$).
 Note: hSBA – serum bactericidal antibody assay using human complement; PPAS – per protocol analysis set. *Vaccine seroresponse is defined as hSBA post-vaccination titres $\geq 1:16$ in those with pre-vaccination titres $< 1:8$, or post-vaccination titres ≥ 4 -fold greater than the pre-vaccination titre.

только против серогруппы А было отмечено после совместного введения другой четырёхвалентной конъюгированной менингококковой вакцины и вакцины PCV13 [29].

В 2019 г. примерно 50% случаев ГФМИ с известной серогруппой в России были вызваны менингококками серогрупп, входящих в состав вакцин MenACWY [13]. О потребности в вакцинах, защищающих от ГФМИ, вызванных серогруппами А, С, W и Y, свидетельствует то, что высокая летальность вследствие ГФМИ в России обусловлена серогруппами W (летальность 37%) и С (летальность 25%) [3]. Поэтому наличие и широкое применение вакцин с актуальными серогруппами может значительно снизить заболеваемость и смертность от ГФМИ в России.

Данное исследование имело ряд ограничений. Когда в нём оценивали совместное введение с пневмококковой конъюгированной вакциной, количество участников в каждой исследуемой группе было небольшим. Исследование было спланировано только как описательное и не обладало необходимой мощностью для статистического сравнения изучаемых групп.

Закключение

Вакцина MenACYW-TT была безопасной и иммуногенной при её совместном введении с вакциной PCV13 здоровым детям в возрасте 12–23 месяца. Результаты исследования будут способствовать внедрению вакцины MenACYW-TT в схемы вакцинации детей во всем мире, поскольку растёт количество данных в пользу возможности совместного введения этой вакцины с другими рутинно

применяемыми педиатрическими вакцинами без изменения их безопасности и иммуногенности.

Совместное использование данных

Квалифицированные научные сотрудники могут подать запрос на доступ к данным на уровне пациентов, в том числе на доступ к отчету о клиническом исследовании, протоколу исследования со всеми поправками, бланку индивидуальной регистрационной карты, плану статистического анализа и спецификациям набора данных. Данные на уровне пациентов будут обезличены, а документы исследования отредактированы в целях защиты персональных данных участников исследования. Более подробная информация о критериях обмена данными компании Санофи, соответствующих исследованиям и порядке запроса доступа размещена на сайте: <https://www.vivli.org/>

Приложение

Дополнительные методы

Концентрацию антител против *Streptococcus pneumoniae* определяли методом электрохемилюминесцентного анализа (ЭХЛ) на IgG против капсульного полисахарида (PnPS) для серотипов 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F. На поверхность лунок 96-луночных планшетов наносили очищенные антигены (компания «МезоСкейлДискавери» [MesoScale Discovery], Роквилл, Мэриленд, США) и инкубировали в лунках разведённые образцы сыворотки крови, которые предварительно обработали абсорбентами клеточной стенки пневмококка.

Таблица S1. Количество и доля участников с увеличением титра чСБА в ≥ 4 раза от исходного уровня до дня 30 – популяция участников, завершивших исследование в соответствии с протоколом

Table S1. Number and percentage of subjects with ≥ 4 -fold rise of hSBA titer from baseline to D30 – Per-protocol Analysis Set

Серогруппа Serogroup	MenACYW-TT + PCV13 (N = 196)			MenACYW-TT (N = 96)		
	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]
A	114/196	58,2	[50,9–65,2]	70/96	72,9	[62,9–81,5]
C	181/196	92,3	[87,7–95,7]	88/96	91,7	[84,2–96,3]
Y	185/196	94,4	[90,2–97,2]	90/96	93,8	[86,9–97,7]
W	174/196	88,8	[83,5–92,8]	87/96	90,6	[82,9–95,6]

Примечание: n – количество участников с титром, отвечающим критериям кратности увеличения; M – количество участников с действительными результатами анализа на антитела против конкретной серогруппы; N – количество участников в PPAS. Доли вычислены для M.

Note: n – number of subjects with titer that meets the fold rise criteria; M – number of subjects with valid serology results for the particular serogroup; N – number of subjects in PPAS. Percentages are based on M.

Таблица S2. Ожидаемые реакции в месте инъекции: терминология, определения и шкалы для оценки степени выраженности

Table S2. Solicited injection site reactions: terminology, definitions, and intensity scales

Термин в ИРК (MedDRA термин низшего уровня [ТНУ]) CRF term (MedDRA lowest level term [LLT])	Болезненность в месте инъекции Injection site tenderness	Эритема в месте инъекции Injection site erythema	Припухлость в месте инъекции Injection site swelling
Термин дневника пациента Diary card term	Болезненность Tenderness	Покраснение Redness	Припухлость Swelling
Определение Definition		Наличие покраснения, захватывающего примерное место введения иглы Presence of a redness including the approximate point of needle entry	Припухлость в месте инъекции или рядом с ним Припухлость или отек обусловлены инфильтрацией жидкости в ткань или полость и, в зависимости от имеющегося пространства для распространения жидкости, припухлость может быть либо мягкой (типично), либо плотной (менее типично) на ощупь, поэтому ее лучше описывать визуально по размеру Swelling at or near the injection site Swelling or edema is caused by a fluid infiltration in tissue or cavity and, depending on the space available for the fluid to disperse, swelling may be either soft (typically) or firm (less typical) to touch and thus can be best described by looking at the size of the swelling
Шкала степени выраженности Intensity scale	1 степень: минимальная реакция при касании места инъекции 2 степень: ребенок плачет или протестует при касании места инъекции 3 степень: ребенок плачет при касании конечности, в которую выполнена инъекция, или подвижность конечности снижена Grade 1: Minor reaction when injection site is touched Grade 2: Cries or protests when injection site is touched Grade 3: Cries when injected limb is moved, or the movement of the injected limb is reduced	1 степень: от > 0 до < 25 мм 2 степень: от ≥ 5 до < 50 мм 3 степень: ≥ 50 мм Grade 1: > 0 to < 25 mm Grade 2: ≥ 25 to < 50 mm Grade 3: ≥ 50 mm	1 степень: от > 0 до < 25 мм 2 степень: от ≥ 25 до < 50 мм 3 степень: ≥ 50 мм Grade 1: > 0 to < 25 mm Grade 2: ≥ 25 to < 50 mm Grade 3: ≥ 50 mm

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

Таблица S3. Ожидаемые реакции в месте инъекции, возникшие после введения вакцины, с разбивкой по максимальной степени выраженности – популяция для анализа безопасности
Table S3. Solicited injection site reactions after vaccine injection, by maximum intensity during the solicited period
Safety Analysis Set

Участники, у которых возникла по меньшей мере одна реакция: Subjects experiencing at least one:	Максимальная степень выраженности Maximum intensity	MenACYW-TT + PCV13 (N = 200)			MenACYW-TT (N = 100)			PCV13 (N = 99)		
		п/М	%	[95% ДИ] [95% CI]	п/М	%	[95% ДИ] [95% CI]	п/М	%	[95% ДИ] [95% CI]
Реакции в месте введения MenACYW-TT										
Болезненность в месте инъекции Injection site tenderness	Любая Any	28/200	14,0	[9,5–19,6]	8/100	8,0	[3,5–15,2]	Н/П	Н/П	Н/П
	1 степени Grade 1	18/200	9,0	[5,4–13,9]	6/100	6,0	[2,2–12,6]	Н/П	Н/П	Н/П
	2 степени Grade 2	6/200	3,0	[1,1–6,4]	2/100	2,0	[0,2–7,0]	Н/П	Н/П	Н/П
	3 степени Grade 3	4/200	2,0	[0,5–5,0]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	Н/П	Н/П	Н/П
Эритема в месте инъекции Injection site erythema	Все Any	43/200	21,5	[16,0–27,8]	17/100	17,0	[10,2–25,8]	Н/П	Н/П	Н/П
	1 степени Grade 1	42/200	21,0	[15,6–27,3]	17/100	17,0	[10,2–25,8]	Н/П	Н/П	Н/П
	2 степени Grade 2	1/200	0,5	[0,0–2,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	Н/П	Н/П	Н/П
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	Н/П	Н/П	Н/П
Припухлость в месте инъекции Injection site swelling	Все Any	8/200	4,0	[1,7–7,7]	7/100	7,0	[2,9–13,9]	Н/П	Н/П	Н/П
	1 степени Grade 1	8/200	4,0	[1,7–7,7]	7/100	7,0	[2,9–13,9]	Н/П	Н/П	Н/П
	2 степени Grade 2	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	Н/П	Н/П	Н/П
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0; 3,6]	Н/П	Н/П	Н/П
Реакции в месте введения PCV13										
Болезненность в месте инъекции Injection site tenderness	Все Any	34/200	17,0	[12,1–22,9]	Н/П	Н/П	Н/П	9/99	9,1	[4,2–16,6]
	1 степени Grade 1	22/200	11,0	[7,0–16,2]	Н/П	Н/П	Н/П	7/99	7,1	[2,9–14,0]
	2 степени Grade 2	7/200	3,5	[1,4–7,1]	Н/П	Н/П	Н/П	1/99	1,0	[0,0–5,5]
	3 степени Grade 3	5/200	2,5	[0,8–5,7]	Н/П	Н/П	Н/П	1/99	1,0	[0,0–5,5]
Эритема в месте инъекции Injection site erythema	Все Any	48/200	24,0	[18,3–30,5]	Н/П	Н/П	Н/П	8/99	8,1	[3,6–15,3]
	1 степени Grade 1	47/200	23,5	[17,8–30,0]	Н/П	Н/П	Н/П	8/99	8,1	[3,6–15,3]
	2 степени Grade 2	1/200	0,5	[0,0–2,8]	Н/П	Н/П	Н/П	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	Н/П	Н/П	Н/П	0/99	0,0	[0,0–3,7]
Припухлость в месте инъекции Injection site swelling	Все Any	19/200	9,5	[5,8–14,4]	Н/П	Н/П	Н/П	2/99	2,0	[0,2–7,1]
	1 степени Grade 1	17/200	8,5	[5,0–13,3]	Н/П	Н/П	Н/П	2/99	2,0	[0,2–7,1]
	2 степени Grade 2	2/200	1,0	[0,1–3,6]	Н/П	Н/П	Н/П	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	Н/П	Н/П	Н/П	0/99	0,0	[0,0–3,7]

Примечание: n – количество участников, достигших конечной точки, указанной в первых 2 столбцах; M – количество участников с имеющимися данными для соответствующей конечной точки; N – количество участников в SafAS. Доли вычислены для M
 Note: n – number of subjects experiencing the endpoint listed in the 1st 2 columns; M – number of subjects with available data for the relevant endpoint; N – number of subjects in SafAS. Percentages are based on M.

Таблица S4. Ожидаемые системные реакции, возникшие после введения вакцины, с разбивкой по максимальной степени выраженности — популяция для анализа безопасности

Table S4. Solicited systemic reactions after vaccine injection, by maximum intensity during the solicited period - Safety Analysis Set

Участники, у которых возникла по меньшей мере одна реакция: Subjects experiencing at least one:	Максимальная степень выраженности Maximum intensity	MenACYW-TT + PCV13 (N = 200)			MenACYW-TT (N = 100)			PCV13 (N = 99)		
		n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]
Лихорадка Fever	Все Any	12/200	6,0	[3,1–10,2]	3/100	3,0	[0,6; 8,5]	2/99	2,0	[0,2–7,1]
	1 степени Grade 1	7/200	3,5	[1,4–7,1]	2/100	2,0	[0,2–7,0]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	2 степени Grade 2	5/200	2,5	[0,8–5,7]	1/100	1,0	[0,0–5,4]	2/99	2,0	[0,2–7,1]
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
Рвота Vomiting	Все Any	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	1 степени Grade 1	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	2 степени Grade 2	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	3 степени Grade 3	0/200	0,0	[0,0–1,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
Необычная плаксивость Abnormal crying	Все Any	8/200	4,0	[1,7–7,7]	4/100	4,0	[1,1–9,9]	2/99	2,0	[0,2–7,1]
	1 степени Grade 1	3/200	1,5	[(0,3–4,3]	3/100	3,0	[(0,6–8,5]	1/99	1,0	[0,0–5,5]
	2 степени Grade 2	3/200	1,5	[(0,3–4,3]	1/100	1,0	[0,0–5,4]	1/99	1,0	[0,0–5,5]
	3 степени Grade 3	2/200	1,0	[0,1–3,6]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
Сонливость Drowsiness	Все Any	25/200	12,5	[8,3–17,9]	6/100	6,0	[2,2–12,6]	4/99	4,0	[1,1–10,0]
	1 степени Grade 1	24/200	12,0	[7,8–17,3]	5/100	5,0	[1,6–11,3]	4/99	4,0	[1,1–10,0]
	2 степени Grade 2	0/200	0,0	[0,0–1,8]	1/100	1,0	[0,0–5,4]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
	3 степени Grade 3	1/200	0,5	[0,0–2,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]
Отсутствие аппетита Appetite loss	Все Any	19/200	9,5	[5,8–14,4]	12/100	12,0	[6,4–20,0]	7/99	7,1	[2,9–14,0]
	1 степени Grade 1	14/200	7,0	[3,9–11,5]	11/100	11,0	[5,6–18,8]	6/99	6,1	[2,3–12,7]
	2 степени Grade 2	4/200	2,0	[0,5–5,0]	1/100	1,0	[0,0–5,4]	1/99	1,0	[0,0–5,5]
	3 степени Grade 3	1/200	0,5	[0,0–2,8]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]

Планшеты промывали и в лунки вносили конъюгированные с меткой SULFO-TAG антитела против иммуноглобулина (Ig) человека, избыток конъюгата

удаляли и добавляли буфер для чтения результатов. Планшет анализировали методом ЭХЛ и количество антител определяли относительно стандартного

Таблица S4. Продолжение
Table S4. Continuation

Участники, у которых возникла по меньшей мере одна реакция: Subjects experiencing at least one:	Максимальная степень выраженности Maximum intensity	MenACYW-TT + PCV13 (N = 200)			MenACYW-TT (N = 100)			PCV13 (N = 99)		
		n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]	n/M	%	[95% ДИ] [95% CI]
Раздражительность Irritability	Все Any	26/200	13,0	[8,7–18,5]	16/100	16,0	[9,4–24,7]	9/99	9,1	[4,2–16,6]
	1 степени Grade 1	11/200	5,5	[2,8–9,6]	9/100	9,0	[4,2–16,4]	4/99	4,0	[1,1–10,0]
	2 степени Grade 2	11/200	5,5	[2,8–9,6]	7/100	7,0	[2,9–13,9]	5/99	5,1	[1,7–11,4]
	3 степени Grade 3	4/200	2,0	[0,5–5,0]	0/100	0,0	[0,0–3,6]	0/99	0,0	[0,0–3,7]

Примечание: n – количество участников, достигших конечной точки, указанной в первых 2 столбцах; M – количество участников с имеющимися данными для соответствующей конечной точки; N – количество участников в SafAS. Доли вычислены для M
Note: n – number of subjects experiencing the endpoint listed in the 1st 2 columns; M – number of subjects with available data for the relevant endpoint; N – number of subjects in SafAS. Percentages are based on M.

раствора в мкг/мл. Нижний предел количественной оценки метода составлял 0,15 мкг/мл.

Серопротективные уровни антител к антигенам PCV13 определены как:

Концентрация антител против пневмококков серотипов 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F \geq 0,35 и 1,0 мкг/мл.

Литература/ References

- Burman C, et al. Meningococcal disease in adolescents and young adults: a review of the rationale for prevention through vaccination. *Hum Vaccin Immunother* 2019; 15(2):459–469.
- Nadel S, Ninis N. Invasive meningococcal disease in the vaccine era. *Front Pediatr* 2018; 6:321.
- Martinón-Torres F. Deciphering the burden of meningococcal disease: Conventional and under-recognized elements. *J Adolesc Health* 2016;59(2, Supplement):S12–S20.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive meningococcal disease: Annual Epidemiological Report for 2017. 2019
- Booy R, et al. Recent changes in the epidemiology of *Neisseria meningitidis* serogroup W across the world, current vaccination policy choices and possible future strategies. *Hum Vaccin Immunother* 2019; 15(2):470–480.
- Campbell H, Ladhani S. The importance of surveillance: Group W meningococcal disease outbreak response and control in England. *International Health* 2016; 8(6):369–371.
- Bröker M, et al. Meningococcal serogroup Y disease in Europe: Continuation of high importance in some European regions in 2013. *Hum Vaccin Immunother* 2015; 11(9):2281–2286.
- Knol MJ, et al. Temporal associations between national outbreaks of meningococcal serogroup W and C disease in the Netherlands and England: an observational cohort study. *Lancet Publ Health* 2017; 2(10):e473–e482.
- Shaker R, Fayad D, Dbaibo G. Challenges and opportunities for meningococcal vaccination in the developing world. *Hum Vaccin Immunother* 2018; 14(5): 1084–1097.
- Martin NV, et al. Rise in invasive serogroup W meningococcal disease in Australia 2013–2015. *Com Dis Intell Q Rep* 2016; 40(4): E454–e459.
- Tsang R, et al. Increase in *Neisseria meningitidis* serogroup W invasive disease in Canada: 2009–2016. *Canada Communic Dis Rep* 2017; 43(7–8):144–149.
- Borrow R, et al. The Global Meningococcal Initiative: global epidemiology, the impact of vaccines on meningococcal disease and the importance of herd protection. *Expert Rev Vaccin* 2017; 16(4):313–328.
- Менингококковая инфекция и гнойные бактериальные менингиты в РФ в 2019 г. Информационно-аналитический обзор российского Референс-центра по мониторингу за МИ и ГБМ Федеральной службы Роспотребнадзора. М., 2020.
- Meningococcal infection and purulent bacterial meningitis in the Russian Federation in 2019. Information and analytical review of the Russian Reference Center for monitoring MI and GBM of the Federal Service of Rosпотребнадзор. М., 2020.
- Anez G, et al. Immunogenicity and safety of a booster dose of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine (MenACYW-TT) in adolescents and adults: A Phase III randomized study. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16(6): 1292–1298.
- Vesikari T, et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine (MenACYW-TT) in healthy toddlers: A Phase II randomized study. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16(6):1306–1312.
- Kirstein J, et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine (MenACYW-TT) in adults 56 years of age and older: A Phase II randomized study. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16(6):1299–1305.
- Esteves-Jaramillo A, et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine (MenACYW-TT) in \geq 56-year-olds: A Phase III randomized study. *Vaccine* 2020; 38(28):4405–4411.
- Dhingra MS, et al. Immunogenicity, safety and inter-lot consistency of a meningococcal conjugate vaccine (MenACYW-TT) in adolescents and adults: A Phase III randomized study. *Vaccine* 2020; 38(33):5194–5201.
- Baccarini CI, et al. Safety and immunogenicity of a quadrivalent meningococcal conjugate vaccine in healthy meningococcal-naïve children 2–9 years of age: A phase III, randomized study. *Pediatr Infect Dis J* 2020; 39(10):955–960.
- VanDerVliet D, et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine (MenACYW-TT) vs. a licensed quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine in meningococcal vaccine-naïve and meningococcal C conjugate vaccine-primed toddlers: A phase III randomised study. *Epidemiol Infect* 2021;149:e50
- Chang LJ, et al. A Phase II, randomized, immunogenicity and safety study of a quadrivalent meningococcal conjugate vaccine, MenACYW-TT, in healthy adolescents in the United States. *Vaccine* 2020; 38(19):3560–3569.
- Dhingra MS, et al. Immunogenicity and safety of a quadrivalent meningococcal tetanus toxoid-conjugate vaccine administered concomitantly with other paediatric vaccines in toddlers: A phase III randomised study. *Epidemiol Infect* 2021;149:e90.
- Maslanka SE, et al. Standardization and a multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. *The Multilaboratory Study Group. Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4(2):156–167.

24. Findlow H, Borrow R. Interactions of conjugate vaccines and co-administered vaccines. *Hum Vaccin Immunother* 2016; 12(1):226–230.
25. Bröker M, et al. Polysaccharide conjugate vaccine protein carriers as a “neglected valency” – Potential and limitations. *Vaccine* 2017; 35(25):3286–3294.
26. Keshavan P, et al. An update of clinical experience with the quadrivalent meningococcal ACWY-CRM conjugate vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2018; 17(10):865–880.
27. Gasparini R, et al. Safety and immunogenicity of a quadrivalent meningococcal conjugate vaccine and commonly administered vaccines after coadministration. *Pediatr Infect Dis J* 2016; 35(1):81–93.
28. Assaf-Casals A, Dbaibo G. Meningococcal quadrivalent tetanus toxoid conjugate vaccine (MenACWY-TT, Nimenrix™): A review of its immunogenicity, safety, co-administration, and antibody persistence. *Hum Vaccin Immunother* 2016; 12(7):1825–1837
29. Cutland CL, et al. Immunogenicity and safety of one or two doses of the quadrivalent meningococcal vaccine MenACWY-TT given alone or with the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in toddlers: A phase III, open-label, randomised study. *Vaccine* 2018; 36(14):1908–1916

Об авторах

- **Л. С. Намазова-Баранова** – Институт педиатрии, Центральная клиническая больница Российской академии наук, Москва, Россия. leyla.s.namazova@gmail.com.
- **О. А. Перминова** – Детская городская клиническая поликлиника №5, г. Пермь, Россия. perminova20062006@yandex.ru.
- **Т. А. Романова** – Самарская областная детская клиническая больница, г. Самара, Россия. romanovashyst@gmail.com.
- **В. В. Романенко** – Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия. romanenko.v47@gmail.com.
- **А. Н. Галустян** – Санкт-петербургский государственный педиатрический медицинский университет, компания «Медицинские технологии ЛТД», Санкт-Петербург, Россия. dr.galustyan@gmail.com.
- **В. Н. Городин** – Краснодарский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Россия. vgorodin@mail.ru.
- **И. В. Осипова** – Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия; ООО «АСКО-МЕД-ПЛЮС», г. Барнаул, Россия. i.v.osipova@gmail.com.
- **В. Ю. Родникова** – Медицинский центр «Губернский лекарь», г. Мурманск, Россия. rodnikova.v@bk.ru.
- **С. М. Харит** – Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия. kharit-s@mail.ru.
- **Ю. В. Ковширина** – Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия. yulia.v.kovshirina@gmail.com.
- **В. А. Анохин** – Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия. anokhin56@mail.ru.
- **С. Б'Чир** – Глобальный департамент биостатистики, Санофи, Марсил-Этуаль, Франция. siham.bchir@sanofi.com.
- **Д. Невё** – Глобальный департамент фармаконадзора, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США. david.neveu@sanofi.com.
- **М. Бонапарт** – Глобальный департамент клинической иммунологии, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США. matthew.bonaparte@sanofi.com.
- **Г. Аньес** – Глобальный департамент стратегии клинической разработки, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США. german.anez@gmail.com.
- **Э. Йорданов** – Глобальный департамент стратегии клинической разработки, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США. emilia.jordanov@sanofi.com.
- **М. С. Дхингра** – Глобальный департамент стратегии клинической разработки, Санофи, Свифтуотер, Пенсильвания, США. MandeepSingh.Dhingra@sanofi.com.
- **А. В. Гольдштейн** – Медицинский отдел, Санофи, Москва, Россия. alexander.goldstein@sanofi.com.

Поступила: 23.08.2022. Принята к печати: 21.11.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **LS Namazova-Baranova** – Institute of Pediatrics, Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Science, Moscow, Russia. leyla.s.namazova@gmail.com.
- **OA Perminova** – Children's City Outpatient Clinic No. 5, Perm, Russia. perminova20062006@yandex.ru.
- **TA Romanova** – Samara Regional Children's Hospital, Samara, Russia. romanovashyst@gmail.com.
- **VV Romanenko** – Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia. romanenko.v47@gmail.com.
- **AN Galustyan** – Saint-Petersburg State Pediatric Medical University; Medical Technologies LTD, St. Petersburg, Russia. dr.galustyan@gmail.com.
- **VN Gorodin** – Krasnodar State Medical University, Krasnodar, Russia. vgorodin@mail.ru.
- **IV Osipova** – Altai State Medical University, Barnaul, Russia; LLC ASKO-MED-PLUS (Institution), Barnaul, Russia. i.v.osipova@gmail.com.
- **VYu Rodnikova** – «Gubernsky Lekar» Outpatient Clinic, Murmansk, Russia. rodnikova.v@bk.ru.
- **SM Kharit** – Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia. kharit-s@mail.ru.
- **YuV Kovshirina** – Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. yulia.v.kovshirina@gmail.com.
- **VA Anokhin** – Kazan State Medical University, Kazan, Russia. anokhin56@mail.ru.
- **S B'Chir** – Global Biostatistical Sciences, Sanofi, Marcy l'Etoile, France. siham.bchir@sanofi.com.
- **D Neveu** – Global Pharmacovigilance, Sanofi, Swiftwater, PA, USA. david.neveu@sanofi.com.
- **M Bonaparte** – Global Clinical Immunology, Sanofi, Swiftwater, PA, USA. bonaparte@sanofi.com.
- **G Áñez** – Global Clinical Development Strategy, Sanofi, Swiftwater, PA, USA. german.anez@gmail.com.
- **E Jordanov** – Global Clinical Development Strategy, Sanofi, Swiftwater, PA, USA. emilia.jordanov@sanofi.com.
- **MS Dhingra** – Global Clinical Development Strategy, Sanofi, Swiftwater, PA, USA. MandeepSingh.Dhingra@sanofi.com.
- **AV Goldstein** – Medical Affairs, Sanofi, Moscow, Russia. alexander.goldstein@sanofi.com.

Received: 23.08.2022. Accepted: 21.11.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

ИНФОРМАЦИЯ ВОЗ

Всемирный день борьбы со СПИДом 2022 г.

«Лакмусовая бумажка» для определения возможности элиминации – дети и ключевые группы населения

ВОЗ рекомендует сконцентрировать внимание на тех группах населения, которые остались в стороне от глобальных усилий по борьбе с ВИЧ и СПИДом. Лишь 52% детей с ВИЧ-инфекцией проходят жизненно необходимый курс лечения. Если мы сможем добиться прогресса в прекращении новых случаев инфицирования среди детей и обе-

спечим, чтобы все получали качественные антиретровирусные препараты, у нас появятся большие надежды, и мы сможем укрепить приверженность делу ликвидации СПИДа среди всех групп населения к 2030 г.

Источник: <https://www.who.int/ru/campaigns/world-aids-day/2022>

Клинико-эпидемиологические особенности актуальных клещевых инфекций в условиях массовой вакцинации населения против клещевого вирусного энцефалита (на примере мегаполиса)

В. А. Мищенко*¹, И. В. Вялых¹, А. Г. Сергеев^{1,3}, И. П. Быков¹,
М. Г. Топоркова², В. И. Чалапа¹

¹ Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург

² Медицинское объединение «Новая больница», г. Екатеринбург

³ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

Резюме

Актуальность. Клинические аспекты клещевого вирусного энцефалита (КЭ) и иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) в качестве моноинфекций хорошо изучены. При этом остаются недостаточно исследованными вопросы взаимного влияния возбудителей при сочетанной клещевой энцефалит-боррелиозной инфекции (СКЭБИ), эффективности профилактических мероприятий, их влияние на уровень заболеваемости и клинические формы. **Цель.** Изучение соотношения клинических форм КЭ и СКЭБИ у лиц с наличием в анамнезе специфической профилактики КЭ, а также при её отсутствии. **Материалы и методы.** Проанализированы данные истории болезни 454 пациентов, имеющих подтверждённый диагноз КЭ и СКЭБИ, за 2010–2017 гг. **Результаты и обсуждение.** В исследовании отражены соотношения клинических форм КЭ при моно- и микст-инфекции, а также влияние на них иммунопрофилактики. При помощи регрессионных моделей показана динамика регистрации клинических форм КЭ в течение 8-летнего периода наблюдения. Отмечена синхронизация показателей заболеваемости очаговой и менингеальной формами как при КЭ, так и при СКЭБИ со статистически значимым снижением частоты их встречаемости. Регистрация лихорадочных форм как при микст-, так и при моноинфекциях сохранялась на практически неизменном уровне. **Выводы.** Установлено, что частота встречаемости тяжёлых очаговых форм заболевания у пациентов, одновременно инфицированных возбудителями КЭ и ИКБ, была в 1,5 раза ниже, а процент лиц с лихорадочной формой КЭ статистически значимо выше, чем в группе пациентов с моноинфекцией КЭ, что может свидетельствовать как о более благоприятном течении заболевания СКЭБИ, так и о гипердиагностике лихорадочных форм КЭ при СКЭБИ. Увеличение охвата населения вакцинацией привело к статистически значимому снижению количества госпитализированных КЭ и СКЭБИ в тяжёлых (очаговой и менингеальной) клинических формах.

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, клещевой боррелиоз, сочетанная инфекция, клинико-эпидемиологические особенности, клинические формы, иммунопрофилактика

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Мищенко В. А., Вялых И. В., Сергеев А. Г. и др. Клинико-эпидемиологические особенности актуальных клещевых инфекций в условиях массовой вакцинации населения против клещевого вирусного энцефалита (на примере мегаполиса). *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(6): 82–88. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-82-88>

Clinical and Epidemiological Features of Actual Tick-Borne Infections under Conditions of Mass Vaccination against Tick-Borne Viral Encephalitis (by the Example of a Megapolis)

VA Mishchenko**¹, IV Vyalykh¹, AG Sergeev^{1,3}, IP Bykov¹, MG Toporkova², VI Chalapa¹

¹ Ekaterinburg Research Institute of Viral Infection, Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Ekaterinburg, Russia

* Для переписки: Мищенко Владимир Алексеевич, научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита, НИИ вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 620030, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23. +7 (343) 261-99-47 (доб. 105), mishchenko_va@eniivi.ru; innamoramento23@yandex.ru. ©Мищенко В. А. и др.

** For correspondence: Mishchenko Vladimir A., Researcher, Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosпотребнадзор, 23 Lyetnyaya street, Yekaterinburg, 620030, Russia. +7 (343) 261-99-47 (ext. 105), mishchenko_va@eniivi.ru; innamoramento23@yandex.ru. ©Mishchenko VA, et al.

² Medical Association «New Hospital», Ekaterinburg, Russia

³ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

Abstract

Relevance. The clinical aspects of tick-borne viral encephalitis (TBE) and Lyme borreliosis (LB) as mono-infections are well known. At the same time, the issues of interaction of pathogens in tick-borne encephalitis – Lyme borreliosis mixed infection (TBE – LB mixed infection), the effectiveness of specific prophylaxis, their effect on the incidence rate and clinical forms have not been sufficiently studied. **Aims.** The aim of this work was to study the clinical course of TBE and TBE – LB mixed infection in patients with specific prophylaxis of TBE, as well as in its absence. **Materials & Methods.** Medical history data from 454 patients with a confirmed diagnosis of TBE and TBE – LB mixed infection during 2010–2017 were analyzed. **Results.** The clinical course of the disease in TBE mono- and mixed infection, as well as the connection of immunization with the clinical forms of the disease are reflected. The dynamics of the registration of clinical forms of TBE and TBE – LB mixed infection for 8 years was shown using regression models. Synchronization of the incidence of focal and meningeal forms in TBE and TBE – LB mixed infection with a statistically significant decrease in the frequency of their occurrence was noted. The incidence of febrile forms in TBE mono-infection, as well as in mixed infections, remained practically unchanged. **Conclusions.** It was found that the incidence of severe focal and meningeal forms of the disease in patients with TBE – LB mixed infection was 1.5 times lower, and the proportion of patients with febrile form TBE was statistically significantly higher than in the group of patients with TBE mono-infection, which may indicate a more favorable during TBE – LB mixed infection, and overdiagnosis of febrile form TBE in TBE – LB mixed infection. The increase in the rate of vaccination against TBE of the population contributed to a decrease in the number of TBE and TBE – LB mixed infection cases due to severe clinical forms (focal and meningeal).

Keywords: tick-borne viral encephalitis, Lyme borreliosis, mixed infection, clinical and epidemiological features, clinical forms, immunization

No conflict of interest to declare.

For citation: Mishchenko VA, Vyalykh IV, Sergeev AG et al. Clinical and epidemiological features of actual tick-borne infections under conditions of mass vaccination against tick-borne viral encephalitis (by the example of a megapolis). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 82–88 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-82-88>

Введение

Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, ежегодно составляют, как в России, так и на территории Европейского союза, значительную часть всех случаев природно-очаговых инфекций – от 10 до 25% [1–5]. Клещевой энцефалит (КЭ) и иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) относятся к одним из наиболее опасных инфекций, очаги которых, ввиду общих переносчиков и резервуаров инфекции, как правило, являются сочетанными [6–8]. Свердловская область, включая г. Екатеринбург и его городскую агломерацию, эндемична по КЭ и ИКБ [9]. Смешанная клещевая энцефалит-боррелиозная инфекция (СКЭБИ) имеет наибольшее медико-социальное и экономическое значение, что объясняется широкой распространённостью возбудителей, полиморфным течением, трудностями своевременной диагностики и лечения, тенденцией к росту заболеваемости.

Разноречивость имеющихся сведений об особенностях клинических проявлений КЭ и ИКБ при одновременном инфицировании затрудняет диагностику и, как следствие, лечение пациентов со смешанной инфекцией. Рядом авторов установлено, что микст-формы клещевых инфекций имеют относительно благоприятное течение. Они имеют в отдельных случаях четко очерченную клинику, по которой можно предположить диагноз микст-инфекции на ранних стадиях болезни [10,11]. В то же время характер взаимодействия возбудителей при развитии микст-инфекции требует дальнейшего

изучения [12,13]. Кроме того, в последние годы на территории Свердловской области отмечают снижение уровня заболеваемости клещевыми нейроинфекциями с превалированием лихорадочных форм в их клинической структуре, что было нами показано в предыдущих исследованиях [14].

В свете современных подходов к профилактике клещевых инфекций при хорошо изученных клинических аспектах протекания моноинфекций КЭ и ИКБ остаются недостаточно исследованными вопросы клинического течения КЭ и ИКБ при микст-инфекции, другие клинико-эпидемиологические особенности и эффективность профилактических мероприятий.

Цель исследования – изучение соотношения клинических форм КЭ и СКЭБИ у лиц с наличием в анамнезе специфической профилактики КЭ, а также при её отсутствии (на примере г. Екатеринбурга).

Материалы и методы

Проведено ретроспективное (2010–2017 гг.) описательное исследование клинико-эпидемиологических особенностей клещевых инфекций, связанных с моно- (КЭ) и микст-инфицированием (СКЭБИ), возникших у лиц с наличием специфической профилактики в анамнезе (вакцинация/ревакцинация, экстренная серопротекция), а также при её отсутствии. Исследование осуществлено на базе Городского центра диагностики и лечения природно-очаговых (клещевых) инфекций

(1-е неврологическое отделение, ООО МО «Новая больница», г. Екатеринбург), где оказывают основную объём медицинской помощи жителям Екатеринбурга по поводу рассматриваемой группы заболеваний. Проанализированы клинико-эпидемиологические данные 454 пациентов, в выборку включали всех пациентов с подтверждённым диагнозом КЭ (246 человек) и СКЭБИ (208 человек). Вакцинация и экстренная серопротекция КЭ ранее были проведены в группе больных КЭ у 105 (42,7%) пациентов, а в группе больных СКЭБИ – у 102 (49,0%). Этиологию заболеваний верифицировали методом ИФА: наличие специфических иммуноглобулинов классов М и G (IgM, IgG) к возбудителю боррелиоза (*B. burgdorferi* s.l.) выявляли в парных пробах сыворотки крови с использованием коммерческих диагностических наборов «Боррелиоз-ИФА-IgM» и «Боррелиоз-ИФА-IgG» (ООО «Омникс», г. Санкт-Петербург); наличие специфических IgM, IgG к вирусу КЭ определяли в парных пробах сыворотки крови и цереброспинальной жидкости с применением тест-систем «ВектоВКЭ-IgG» и «ВектоВКЭ-IgM» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) с расчётом коэффициента позитивности.

Для оценки зависимости среднего количества заболевших клиническими формами КЭ и СКЭБИ от уровня вакцинации населения против КЭ строили регрессионную модель с использованием данных о вакцинации против клещевого энцефалита населения Свердловской области за 2010–2017 гг. из формы статистического наблюдения № 4. Уровень вакцинации населения против КЭ за описываемый период повысился с 77,0% в 2010 г. до 87,4% в 2017 г.

Статистический анализ

При описании данных для качественных признаков находили абсолютные и относительные (в %) частоты; для последних приводили 95% доверительные интервалы, рассчитанные по методу Уилсона (Wilson CI for proportion) без поправки на непрерывность [15,16].

Сравнение независимых выборок по качественным номинальным показателям осуществляли в ходе анализа таблиц сопряжённости с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для слабонасыщенных таблиц (имелись ячейки со значениями $f_{ij} \leq 5$) оценку статистической значимости проводили рандомизационной техникой Монте-Карло ($n = 9999$). Для выявления ячеек таблицы, давших неслучайный вклад в статистику критерия, рассчитывали согласованные скорректированные остатки Хабермана (Adjusted residuals – AR).

Для оценки эффективности применяемых мер специфической профилактики КЭ рассчитывались значения относительного риска (ОР) с 95% доверительным интервалом, рассчитанным с помощью процедуры бутстрепа (пакет «epitools» в статистической среде R).

Для моделирования счётных данных (целых положительных чисел) использовали вариант обобщённых линейных моделей (GLM) – (лог-линейную) регрессию Пуассона [17]:

$$\log(y_i) = b_0 + \sum b_i X_i + \varepsilon (1).$$

В случае отклонения выборочных данных от теоретического распределения Пуассона применяли квази-пуассоновские регрессионные модели, в которых учитывается возможная сверхдисперсия (вводится поправка): $\varphi = X^2/df_{Res}$ – отношение остаточной девиаты к остаточным степеням свободы.

Регрессионные коэффициенты, как и 95% доверительные интервалы для них (для квази-пуассоновской регрессии – с учетом инфляции параметра дисперсии: $b_i \pm 1.96 \varphi^{0.5} \times SE(b_i)$), которые приведены после обратного преобразования (потенцирования: $\exp(b)$ или $1/\exp(b)$), интерпретируются как кратное изменение отклика при единичном изменении предикторов.

Статистическая обработка результатов и их визуализация проведены с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и статистической среды R 4.0.2 [18].

Результаты и обсуждение

При анализе данных о пациентах с диагнозом: «Клещевой вирусный энцефалит» моноинфекция была выявлена у 54,2% ($n = 246$), микст-инфекция – у 45,8% ($n = 208$). При СКЭБИ отмечено относительно благоприятное течение заболевания, что выражалось в большей доле клинических форм без поражения ЦНС ($\chi^2 = 15,0$; $p < 0,001$). Так, очаговая форма заболевания была диагностирована у 35,0% инфицированных при КЭ и у 23,1% при СКЭБИ (AR: $p < 0,01$), менингеальная – у 18,3% пациентов при КЭ и у 12,0% при СКЭБИ (тенденция к снижению, AR: $p = 0,07$), лихорадочная – в 46,7% и 64,9% (AR: $p = 0,0001$) соответственно (табл. 1). Полученные данные соотносятся с результатами других исследований [11,19]. Кроме того, в последние годы на фоне снижения уровня заболеваемости КЭ наблюдалось возрастание случаев лёгких лихорадочных форм заболевания за счёт сокращения частоты выявления менингеальной формы. При этом частота более тяжёлых очаговых форм заболевания у пациентов не снижалась, а в отдельные годы достигала уровня 25% [14].

Необходимо отметить, что при микст-инфекции лихорадочной формы КЭ и ИКБ пациенты обращаются за медицинской помощью именно в связи с клиническими проявлениями боррелиоза. Вероятно, именно это приводит к большему выявлению лихорадочных форм КЭ и изменению соотношения клинических форм. Вышеуказанные наблюдения, скорее всего, могут объяснить более частое выявление лёгкого течения клещевого энцефалита в сочетании с ИКБ [20].

Таблица 1. Частота встречаемости различных клинических форм клещевого вирусного энцефалита у пациентов с моно- и микст-инфекцией: клещевой энцефалит/боррелиоз
Table 1. Frequency of occurrence of tick-borne viral encephalitis clinical forms in patients with TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection

Группа пациентов Group of patients	Клиническая форма Clinical form			χ^2 (df)
	Очаговая Focal (paralytic) Абс./Abs. % [ДИ/CI 95%]	Менингеальная Meningeal Абс./Abs. % [ДИ/CI 95%]	Лихорадочная Febrile Абс./Abs. % [ДИ/CI 95%]	
КЭ/tbe (n = 246)	86	45	115	$\chi^2(2) = 15,0$ $p < 0,001$
	35,0 [29,3–41,1]	18,3 [14,0–23,6]	46,7 [40,6–53,0]	
КЭ + икб/ tbe+lb (n = 208)	48	25	135	
	23,1 [17,9–29,3]	12,0 [8,3–17,1]	64,9 [58,2–71,1]	
Согласованные остатки (AR) Adjusted residuals (AR)	2,8–2,8 $p < 0,01$	1,8–1,8 $p = 0,07$	–3,9/3,9 $p = 0,0001$	
Всего/Total (n = 454)	134	70	250	
	29,5 [25,5–33,9]	15,4 [12,4–19,0]	55,1 [50,5–59,6]	

Примечание: в квадратных скобках – 95% ДИ, рассчитанные по методу Уилсона для пропорций; 2(df) – критерий хи-квадрат с числом степеней свободы; AR – согласованные стандартизованные остатки Хабермана – для выявления ячеек таблицы, давших значимый вклад в статистику критерия хи-квадрат.
 Note: in square brackets – 95% CI, calculated using the Wilson method for proportions; 2(df) – chi-square test with the number of degrees of freedom; AR – adjusted standardized Haberman residuals – to identify table cells that made a significant contribution to the chi-square test statistics.

В течение всего периода наблюдения отмечали определённые тенденции в динамике выявления различных клинических форм (очаговой, менингеальной и лихорадочной) как при КЭ, так и СКЭБИ (табл. 2, рис. 1).

Полученные регрессионные модели для описания среднего числа заболевших КЭ и СКЭБИ (табл. 2) отражают динамику (изменения за год) и статистические различия между моно- и микст-инфекцией в среднем за 8 лет наблюдения для каждой клинической формы.

Отмечено снижение количества очаговых форм течения заболевания КЭ и СКЭБИ в 1,19 раза в год (см. табл. 2, рис. 1). Микст-инфекция очаговой формы КЭ и СКЭБИ встречалась среди заболевших в среднем за 8 лет (2010–2017 гг.) в 1,8 раза реже, чем моноинфекция КЭ ($p = 0,03$).

Число менингеальных форм КЭ и СКЭБИ также имеет тенденцию к незначительному снижению (в 1,1 раза в год) по сравнению с другими клиническими формами (см. табл. 2, рис. 1). Как и в случае с очаговой формой, микст-инфекция с менингеальной формой течения в среднем за период наблюдения встречалась в 1,8 раза реже, чем при моноинфекции ($p = 0,02$).

Отсутствует тенденция к росту или снижению числа случаев лихорадочных форм КЭ и СКЭБИ (снижение в 1,01 раза за год наблюдений, но коэффициент статистически не значим – см. табл. 2), средние количества заболевших моно- и микст-формами с 2007 г. по 2017 г. статистически значимо не различаются (см. рис. 1).

В таблице 3 показано влияние уровня охвата вакцинацией населения Свердловской области (2010–2017 гг.) на проявление различных клинических форм КЭ и СКЭБИ. За время реализации программы массовой вакцинопрофилактики населения Свердловской области произошло изменение структуры клинических форм КЭ в сторону более лёгкого течения.

Выявлена статистически значимая обратная зависимость между уровнем охвата вакцинацией и количеством тяжёлых форм (очаговой и менингеальной) течения как КЭ, так и СКЭБИ: при увеличении охвата населения профилактическими прививками на 1% количество очаговых и менингеальных форм течения КЭ снижается в 1,12 и 1,06 раза соответственно ($p < 0,0001$ и $p = 0,96$; табл. 3, рис. 2). При этом отсутствует статистически значимая связь между уровнем вакцинации и количеством лихорадочных форм КЭ и СКЭБИ: функциональная зависимость отсутствует ($p = 0,79$).

Таким образом, в период реализации программы массовой вакцинопрофилактики населения Свердловской области против КЭ при возрастании охвата вакцинацией с 77,0 до 87,4% показано изменение структуры клинических форм КЭ в сторону более лёгкого течения (см. табл. 3, см. рис. 2).

Заключение

Проведённые исследования показали, что 45,8% выявленных случаев заболеваний КЭ на территории Свердловской области протекают в виде микст-инфекции с ИКБ. Установлено, что частота

Таблица 2. Параметры регрессионных моделей для описания динамики среднего числа различных клинических форм КЭ и СКЭБИ в 2010–2017 годах (N = 454)

Table 2. Parameters of regression models to describe the dynamics of the average of clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection in 2010–2017 (N = 454)

Предикторы Predictors	b_i	SE(b_i)	z/t-тесты Вальда	$p \leq$	Exp(b_i)	-95% ДИ	+95% ДИ
Регрессия для ненулевых значений / Regression for non-zero values: $y_i = 1, 2...k, \log(y_i) = b_0 + \sum b_i X_i + \varepsilon$ Среднее число клинических форм КЭ и СКЭБИ / Average number of clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection ($y_i \geq 0$)							
1) Лихорадочная форма + СКЭБИ / Febrile TBE + LB mixed infection ($n_1 = 250$) Квази-пуассоновская регрессия, $\phi^{0.5} = 1,52, F(2) = 0,39, p = 0,69$							
b_0	2,71	0,20	13,36	< 0,0001	–	–	–
Год	- 0,01	0,04	- 0,29	0,78	$1,01^{-1}$	$1,10^{-1}$	$0,93^{-1}$
Форма (ЛФ + ИКБ)	0,16	0,19	0,83	0,42	1,17	0,80	1,72
2) Менингеальная форма + СКЭБИ / Meningeal TBE + LB mixed infection ($n_2 = 70$) Регрессия Пуассона, $\phi = 1, LR(2) = 9,14, p = 0,01$							
b_0	2,04	0,22	9,36	< 0,0001	–	–	–
Год	- 0,10	0,05	- 1,82	0,07	$1,10^{-1}$	$1,22^{-1}$	$0,99^{-1}$
Форма (МФ + ИКБ)	- 0,59	0,25	- 2,36	0,02	$1,80^{-1}$	$2,98^{-1}$	$1,11^{-1}$
3) Очаговая форма + СКЭБИ / Focal TBE + LB mixed infection ($n_3 = 134$) Квази-пуассоновская регрессия, $\phi^{0.5} = 1,33, F(2) = 8.92, p = 0,003$							
b_0	2,91	0,20	14,64	< 0,0001	–	–	–
Год	- 0,18	0,05	- 3,34	0,01	$1,19^{-1}$	$1,33^{-1}$	$1,08^{-1}$
Форма (ОФ + ИКБ)	- 0,58	0,24	- 2,43	0,03	$1,79^{-1}$	$2,91^{-1}$	$1,13^{-1}$

Примечание: b_0 – свободный член: только клиническая форма КЭ (без СКЭБИ), 2010 г; $LR(df)$ – тест отношения правдоподобий с количеством степеней свободы; $F(df)$ – тест Фишера с количеством степеней свободы; b_i – регрессионные коэффициенты; $Exp(b_i)$ – коэффициенты после потенцирования интерпретируются как изменение в k раз среднего числа заболевших при единичном изменении предикторов; -1 – приведены $1/exp(b_i)$; ϕ – параметр дисперсии.

Note: b_0 – intercept: only clinical form of TBE (without TBE + Lyme borreliosis mixed infection), 2010; $LR(df)$ – likelihood ratio test with the number of degrees of freedom; $F(df)$ – Fisher's test with the number of degrees of freedom; b_i – regression coefficients; $Exp(b_i)$ – the coefficients after potentiation are interpreted as a k -fold change in the average number of patients with a single change in predictors; -1 – $1/exp(b_i)$ are given; ϕ – is the dispersion parameter.

Рисунок 1. Динамика количества КЭ и СКЭБИ в очаговой форме среди других клинических форм клещевых нейроинфекций, 2010–2017 гг.

Figure 1. Dynamics of the clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection among other clinical forms of tick-borne neuroinfections, 2010–2017.

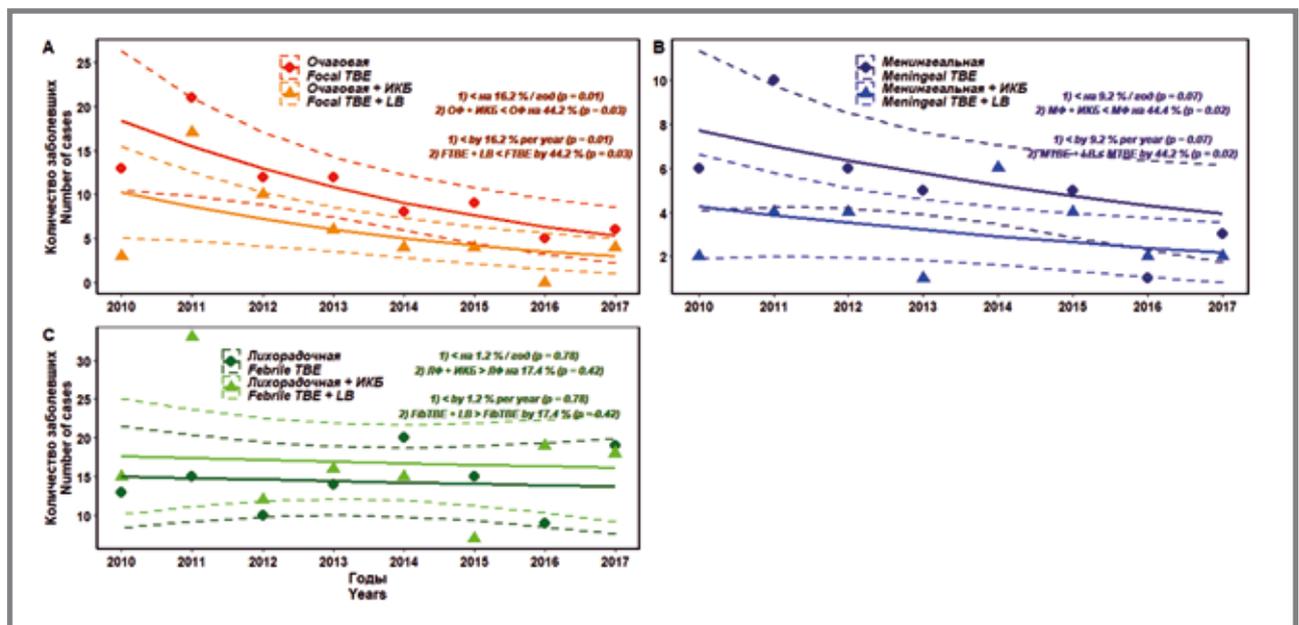


Таблица 3. Параметры регрессионных моделей для описания зависимости среднего числа клинических форм КЭ и СКЭБИ от уровня вакцинации населения против КЭ (N = 454)

Table 3. Parameters of regression models to describe the dependence of the average of clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection on the level of vaccination against TBE (N = 454)

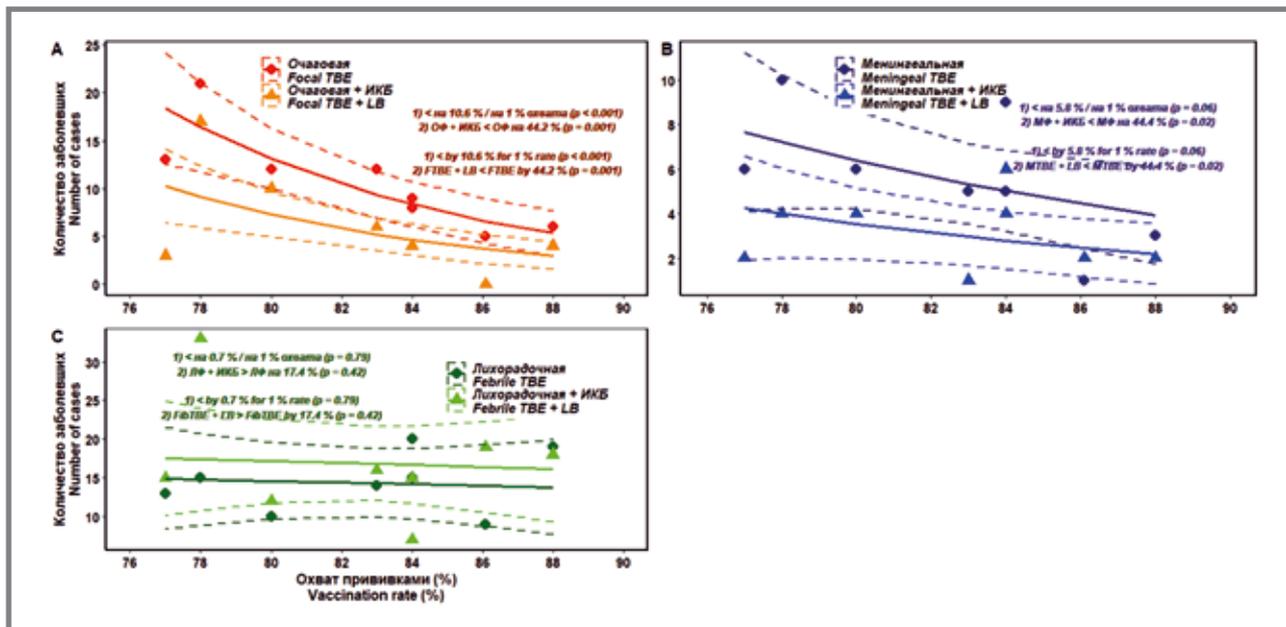
Предикторы Predictors	b_i	SE(b_i)	z/t-тесты Вальда	$p \leq$	Exp(b_i)	-95% ДИ	+95% ДИ
Регрессия для ненулевых значений / Regression for non-zero values: $y_i = 1, 2...k, \log(y) = b_0 + \sum b_i X_i + \varepsilon$ Среднее число заболевших клиническими формами КЭ и СКЭБИ / Average number of patients with clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection ($y_i \geq 0$)							
1) Лихорадочная форма + СКЭБИ / Febrile TBE + LB mixed infection ($n_1 = 250$) Квази-пуассоновская регрессия, $\phi^{0.5} = 1,52, F(2) = 0,38, p = 0,69$							
b_0	3,25	2,19	1,48	0,16	–	–	–
Вакцинация	- 0,01	0,03	- 0,27	0,79	1,01 ⁻¹	1,06 ⁻¹	0,96 ⁻¹
Форма (ЛФ + ИКБ)	0,16	0,19	0,83	0,42	1,17	0,80	1,72
2) Менингеальная форма + СКЭБИ / Meningeal TBE + LB mixed infection ($n_2 = 70$) Регрессия Пуассона, $\phi = 1, LR(2) = 9,15, p = 0,01$							
b_0	6,67	2,70	2,47	0,01	–	–	–
Вакцинация	- 0,06	0,03	- 1,83	0,06	1,06 ⁻¹	1,13 ⁻¹	1,00 ⁻¹
Форма (МФ + ИКБ)	- 0,59	0,25	- 2,36	0,02	1,80 ⁻¹	2,98 ⁻¹	1,11 ⁻¹
3) Очаговая форма + СКЭБИ / Focal TBE + LB mixed infection ($n_3 = 134$) Регрессия Пуассона, $\phi = 1, LR(2) = 32,80, p < 0,0001$							
b_0	11,56	1,98	5,83	< 0,0001	–	–	–
Вакцинация	- 0,11	0,02	- 4,60	< 0,0001	1,12 ⁻¹	1,17 ⁻¹	1,07 ⁻¹
Форма (ОФ + ИКБ)	- 0,58	0,18	- 3,24	0,001	1,79 ⁻¹	2,57 ⁻¹	1,26 ⁻¹

Примечание: b_0 – свободный член: только клиническая форма КЭ (без СКЭБИ); $LR(df)$ – тест отношения правдоподобий с количеством степеней свободы; $F(df)$ – тест Фишера с количеством степеней свободы; b_i – регрессионные коэффициенты; $Exp(b_i)$ – коэффициенты после потенцирования интерпретируются как изменение в k раз среднего числа заболевших при единичном изменении предикторов; -1 – приведены $1/exp(b_i)$; ϕ – параметр дисперсии; ДИ – 95% доверительный интервал.

Note: b_0 – intercept: only clinical form of TBE (without TBE + Lyme borreliosis mixed infection); $LR(df)$ – likelihood ratio test with the number of degrees of freedom; $F(df)$ – Fisher's test with the number of degrees of freedom; b_i – regression coefficients; $Exp(b_i)$ – the coefficients after potentiation are interpreted as a k -fold change in the average number of patients with a single change in predictors; -1 – $1/exp(b_i)$ are given; ϕ – is the dispersion parameter; CI – 95% confidence interval.

Рисунок 2. Зависимость среднего количества клинических форм КЭ и СКЭБИ от уровня вакцинации населения против КЭ, 2010–2017 гг.

Figure 2. Dependence of the average clinical forms of TBE and TBE + Lyme borreliosis mixed infection on the level of vaccination against TBE, 2010–2017.



встречаемости тяжёлых очаговых форм заболевания среди пациентов, одновременно инфицированных возбудителями КЭ и ИКБ, была в 1,5 раза ниже, а процент лиц, у которых КЭ протекал в лёгкой лихорадочной форме, статистически значимо выше, чем среди пациентов с моноинфекцией КЭ, что может свидетельствовать как о более благоприятном течении заболевания СКЭБИ, так и о гипердиагностике лихорадочных форм КЭ при СКЭБИ. Данное явление требует дальнейшего изучения.

Выявлено, что вакцинация является мерой профилактики, особенно эффективной

в отношении КЭ с клиническим тяжёлым течением (очаговые и менингеальные формы). Так, с 2010 г. по 2017 г. отмечено снижение среди заболевших КЭ числа тяжёлых форм (очаговая и менингеальная). Увеличение охвата вакцинацией в течение 8 лет наблюдений привело к статистически значимому снижению количества госпитализированных с КЭ и СКЭБИ в очаговой и менингеальной формах. Число лихорадочных форм КЭ сохранялось на практически неизменном уровне вне зависимости от охвата вакцинацией.

Литература

1. Малеев В. В., Ситников И. Г., Алешковская Е. С. Современные эпидемиологические аспекты клещевых трансмиссивных инфекций в Ярославской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2015. № 3. С. 4–10.
2. Миноранская Н. С., Миноранская Е. И. Клинико-эпидемиологическая характеристика микст-инфекции клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита в Красноярском крае. *Казанский медицинский журнал*. 2013. Т. 94, № 2. С. 211–215.
3. Castro L.R., Gabrielli S., Iori A., et al. Molecular detection of Rickettsia, Borrelia, and Babesia species in Ixodes ricinus sampled in northeastern, central, and insular areas of Italy // *Experimental and Applied Acarology*. 2015. Vol. 66, N3. P. 443–452. doi: 10.1007/s10493-015-9899-y
4. Diuk Wasser M.A., Vannier E., Krause P.J. Coinfection by Ixodes Tick-Borne Pathogens: Ecological, Epidemiological, and Clinical Consequences. *Trends in parasitology*. 2016. Vol. 32, N1. P. 30–42. doi: 10.1016/j.pt.2015.09.008
5. Raileanu C., Moutailler S., Pavel I., et al. Borrelia Diversity and Co-infection with Other Tick Borne Pathogens in Ticks. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017. Vol. 7, N36. P. 1–12. doi: 10.3389/fcimb.2017.00036
6. Бондаренко А. Л., Зыкова И. В., Аббасова С. В. и др. Микст-инфекция клещевого энцефалита и иксодовых клещевых боррелиозов. *Инфекционные болезни*. 2011. Т. 9, № 4. С. 54–63.
7. Коренберг Э. И. Пути совершенствования эпидемиологического надзора за природноочаговыми инфекциями. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2016. Т. 15, № 6. С. 18–29. doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-6-18-29
8. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. Коренберг Э. И., Помелова В. Г., Осин Н. С., Гинцбург А. Л., Злобин В. И., ред. М.: Комментарий; 2013.
9. Глинских Н. П., Кокорев В. С., Пауцк Н. В. и др. Клещевой энцефалит: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика: монография. Екатеринбург: Изд-во АМБ; 2006.
10. Иерусалимский А. П. Клещевые инфекции в начале XXI века. *Неврологический журнал*. 2009. Т. 14, № 3. С. 16–21.
11. Усков А. Н., Лобзин Ю. В., Бургазова О. А. Клещевой энцефалит, эрлихиоз, babesиоз и другие актуальные клещевые инфекции в России. *Инфекционные болезни*. 2010. Т. 8, № 2. С. 83–88.
12. Образцова Р. Г., Волкова Л. И., Дроздова Л. И. Патоморфоз острого клещевого энцефалита на Среднем Урале. Екатеринбург: Уральское издательство; 2008.
13. Субботин А. В., Семенов В. А., Етенко Д. А. Проблема современных смешанных нейроинфекций, передающихся иксодовыми клещами. *Архив внутренней медицины*. 2012. № 2. С. 35–39.
14. Ладыгин О. В., Быков И. П., Топоркова М. Г., и др. Патоморфоз клещевого энцефалита на фоне иммунопрофилактики. *Уральский медицинский журнал*. 2017. № 7. С. 85–92.
15. Sergeant, E.S.G. 2018 [Internet]. *Epitools epidemiological calculators*. Ausvet. Доступно на: <http://epitools.ausvet.com.au>. Ссылка активна на 9 августа 2021.
16. Newcombe R.G. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Statistics in Medicine*. 1998. Vol. 17, Iss. 8. P. 873–890. doi: 10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<873::aid-sim779>3.0.co;2-i
17. McCullagh P., Nelder J.A. *Generalized linear models*. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1989.
18. R Development Core Team. *R: a language and environment for statistical computing* [Internet]. Vienna, Austria: The R Foundation for Statistical Computing, 2011. Доступно по: <https://www.R-project.org>. Ссылка активна на 9 августа 2021.
19. Любезнова О. Н., Бондаренко А. Л. Клинико-эпидемиологические аспекты клещевого энцефалита в эндемичном регионе Европейской части России. *Журнал инфектологии*. 2016. Т. 8, № 15. С. 32–39.
20. Шкарин В. В., Благодрава А. С., Чумаков М. Э. Эпидемиологические особенности сочетанных природно-очаговых инфекций. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2017;16(5):43–52. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-43-52

References

1. Maleev VV, Sitnikov IG, Alshkovskaya ES. Tick-transmitted infections in the Yaroslavl region: current epidemiological aspects. *Epidemiology and infectious diseases*. Current items. 2015;3:4–10 (In Russ).
2. Minoranskaya NS, Minoranskaya EI. Clinical and epidemiologic characteristics of Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis mixed infections in Krasnoyarsk Krai. *Kazant medical journal*. 2013; 94(2):211–215 (In Russ).
3. Castro LR, Gabrielli S, Iori A, et al. Molecular detection of Rickettsia, Borrelia, and Babesia species in Ixodes ricinus sampled in northeastern, central, and insular areas of Italy. *Experimental and Applied Acarology*. 2015;66(3):443–452. doi: 10.1007/s10493-015-9899-y
4. Diuk Wasser MA, Vannier E, Krause PJ. Coinfection by Ixodes Tick-Borne Pathogens: Ecological, Epidemiological, and Clinical Consequences. *Trends in parasitology*. 2016;32(1):30–42. doi: 10.1016/j.pt.2015.09.008
5. Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, et al. Borrelia Diversity and Co-infection with Other Tick Borne Pathogens in Ticks. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017;7(36):1–12. doi: 10.3389/fcimb.2017.00036
6. Bondarenko AL, Zykova IV, Abbasova SV, et al. Mixed infection of tick-borne encephalitis and Ixodes tick-borne borreliosis. *Infectious diseases*. 2011;9(4):54–63 (In Russ).
7. Korenberg EI. Ways of Improving Epidemiological Surveillance of Natural Focal Infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(6):18–29 (In Russ). doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-6-18-29
8. Korenberg EI, Pomelova VG, Osin NS, Gintsburg AL, Zlobin VI, editors. *Natural focal infections transmitted by ticks*. Moscow: Kommentarii; 2013 (In Russ).
9. Glinkikh NP, Kokorov VS, Patsuk NV, et al. Kleshchevyye entsefalit: epidemiologiya, klinika, diagnostika, profilaktika: monografiya. Yekaterinburg: Izd-vo AMB; 2006. (In Russ).
10. Ierusalimskiy AP. Tick-borne infections early in the XXth century. *Nevrologicheskii zhurnal*. 2009;14(3):16–21 (In Russ).
11. Uskov AN, Lobzin YV, Burgasova OA. Tick-borne encephalitis, ehrlichiosis, babesiosis and other topocal tick-borne infections in Russia. *Infectious diseases*. 2010;8(2):83–88. (In Russ).
12. Obratsova RG, Volkova LI, Drozdova LI. Patomorfoz ostroy kleshchevogo entsefalita na Srednem Urale. Yekaterinburg: Ural'skoe izdatel'stvo; 2008. (In Russ).
13. Subbotin AV, Semenov VA, Etenko DA. Problema sovremennykh smeshannykh neyroinfektsiy, peredayushchikhsya iksodovymi kleshchami. *Arkhiv vnutrenney meditsiny*. 2012;2:35–39. (In Russ).
14. Ladygin OV, Bykov IP, Toporkova MG, et al. Pathomorphosis of tick-borne encephalitis in patients receiving immunoprophylaxis. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2017;7:85–92. (In Russ).
15. Sergeant, E.S.G. 2018 [Internet]. *Epitools epidemiological calculators*. Ausvet. Available at: <http://epitools.ausvet.com.au>. Accessed: 9 Aug 2021.
16. Newcombe RG. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Statistics in Medicine*. 1998;17(8):873–890. doi: 10.1002/(sici)1097-0258(19980430)17:8<873::aid-sim779>3.0.co;2-i
17. McCullagh P, Nelder JA. *Generalized linear models*. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1989.
18. R Development Core Team. *R: a language and environment for statistical computing* [Internet]. Vienna, Austria: The R Foundation for Statistical Computing, 2011. Available at: <https://www.R-project.org>. Accessed: 9 Aug 2021.
19. Lyubeznova ON, Bondarenko AL. The clinical and epidemiological features of tick-borne encephalitis at the endemic region of Russia's European part. *Jurnal infektologii*. 2016;8(15):32–39. (In Russ).
20. Shkarin VV, Blagodarava AS, Chumakov EM. Epidemiological Features of Combined Natural-Focal Infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017;16(5):43–52. (In Russ). doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-43-52

Об авторах

- **Владимир Алексеевич Мищенко** – научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита, ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (343) 261-99-47 (доб.105), mischenko_va@enivi.ru, innamoramento23@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4280-283X.
 - Иван Владимирович Вялых – ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита, ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (343) 261-99-47 (доб.105), viahykh_iv@enivi.ru. ORCID: 0000-0002-3123-8359.
 - **Александр Григорьевич Сергеев** – главный научный сотрудник, заведующий отделом, ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; заведующий кафедрой, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. +7 (343) 261-99-47 (доб.105), aldr131250@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5784-8673.
 - **Иван Петрович Быков** – старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций и клещевого энцефалита, ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (343) 261-99-47 (доб.105), bykov_ip@enivi.ru. ORCID: 0000-0002-5157-646X.
 - **Марина Георгиевна Топоркова** – заведующая неврологическим отделением, МО «Новая больница». m.toporkova@newhospital.ru.
 - Вячеслав Игоревич Чалупа – научный сотрудник лаборатории энтеральных вирусных инфекций ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. +7 (343) 261-99-47, chalapa_vi@enivi.ru. ORCID: 0000-0001-5823-5257.
- Поступила: 25.10.2022. Принята к печати: 08.11.2022.
 Контент доступен под лицензией CC BY 4.0. 08.11.2022.

About the Authors

- **Vladimir A. Mishchenko** – Researcher, Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosptrebnadzor. +7 (343) 261-99-47 (ext. 105), mischenko_va@enivi.ru, innamoramento23@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4280-283X.
 - **Ivan V. Vialykh** – Head of the Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosptrebnadzor. +7 (343) 261-99-47 (ext. 105), viahykh_iv@enivi.ru. ORCID: 0000-0002-3123-8359.
 - **Alexander G. Sergeev** – Head of the Department, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosptrebnadzor; Head of the Department, Ural State Medical University. +7 (343) 261-99-47 (ext. 105), aldr131250@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5784-8673.
 - **Ivan P. Bykov** – Senior Researcher, Laboratory of vector-borne viral infections and tick-borne encephalitis, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosptrebnadzor. +7 (343) 261-99-47 (ext. 105), bykov_ip@enivi.ru. ORCID: 0000-0002-5157-646X.
 - **Marina G. Toporkova** – Head of the Neurological Department, Medical Association «New Hospital». m.toporkova@newhospital.ru.
 - **Vyacheslav Ig. Chalapa** – Researcher, Laboratory of Enterovirus Infections, ERIVI, FBRI SRC VB «Vector», Rosptrebnadzor. +7 (343) 261-99-47, chalapa_vi@enivi.ru. ORCID: 0000-0001-5823-5257.
- Received: 25.10.2022. Accepted: 08.11.2022.
 Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-89-96>

Прямая детекция антител к *Yersinia pestis* с использованием стеклянных микроструктурных волноводов как экспресс-метод оценки сероконверсии у привитых против чумы лиц

О. М. Кудрявцева*¹, Ю. С. Скибина², В. А. Кожевников¹, С. А. Бугоркова¹,
М. В. Чайников², А. Ю. Грязнов², Д. Е. Глухов², С. С. Коннова²,
А. А. Шувалов², Т. Н. Щуковская¹

¹ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
г. Саратов, Россия

²ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла» г. Саратов, Россия

Резюме

Актуальность. В рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия на территории природных очагов чумы Российской Федерации по эпидемиологическим показаниям проводится вакцинация населения против этой инфекции. Отсутствие единой схемы оценки эффективности вакцинации диктует необходимость разработки универсальных экспресс-методов, позволяющих проводить скрининговые исследования противочумного иммунитета, в том числе в полевых условиях. **Цель.** Оценить эффективность экспресс-метода прямой детекции антител к *Yersinia pestis* в биологическом материале с использованием стеклянных микроструктурных волноводов с поллой сердцевинной (СМВ ПС) в качестве иммуносенсоров при изучении динамики сероконверсии у привитых вакциной чумной живой людей. **Материалы и методы.** В исследовании взяты образцы сыворотки крови от 30 лиц, привитых по эпидемическим показаниям вакциной чумной живой (ВЧЖ), от 30 добровольцев, не вакцинированных и не имеющих контакта с возбудителем чумы в анамнезе. Выявление специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба в сыворотках проводили параллельно методом ИФА и с применением оптических иммуносенсоров, полученных путем введения реакционной смеси специфического антигена F1 с анализируемым образцом сыворотки крови в структурную оболочку СМВ ПС. **Результаты и обсуждение.** Проведена оценка возможности использования метода прямой детекции антител с помощью СМВ ПС в разные временные интервалы согласно получению сывороток крови в рамках мониторинга за вакцинированными лицами из числа жителей Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Выявлено наличие специфических антител к белку F1 в сыворотке крови привитых волонтеров как с помощью ИФА, так и с применением СМВ ПС. Отмечена быстрота способа прямой детекции АТ (максимум 2 минуты на один тест), отсутствие необходимости применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов и дополнительных затрат на трудоёмкую пробоподготовку. **Заключение.** Метод прямой детекции антител с использованием стеклянных микроструктурных волноводов является перспективным для внедрения в перечень экспресс-методов оценки иммунологической эффективности противочумной вакцинации.

Ключевые слова: специфическая профилактика чумы, детекция антител, стеклянные микроструктурные волноводы с поллой сердцевинной

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Кудрявцева О. М., Скибина Ю. С., Кожевников В. А. и др. Прямая детекция антител к *Yersinia pestis* с использованием стеклянных микроструктурных волноводов как экспресс-метод оценки сероконверсии у привитых против чумы лиц. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2022;21(6): 89–96. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-89-96>

Работа выполнена в рамках НИР по Распоряжению Правительства РФ № 2403-П от 12.10.2019 г. (номер государственного учета АААА-А20-120012090032-0)

Direct Detection of Antibodies to *Yersinia pestis* Using Glass Microstructural Waveguides as an Express Method for Assessing Seroconversion in Individuals Vaccinated against Plague

OM Kudryavtseva**¹, YuS Skibina², VA Kozhevnikov¹, SA Bugorkova¹, MV Chainikov², AYU Gryaznov², DE Glukhov²,
SS Konnova², AA Shuvalov², TN Shchukovskaya¹

* Для переписки: Кудрявцева Ольга Михайловна, к. б. н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 410005, Россия, Саратов, ул. Университетская, 46. +7 (8452) 26-21-31(служебный), +7 (905) 369-71-99, факс +7 (8452) 51-52-12, 3030774@mail.ru; rusrapi@microbe.ru (служебный). ©Кудрявцева О. М. и др.

** For correspondence: Kudryavtseva Olga M., Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Officer at the Department of Immunology FGHI Federal Government Health Institution Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Rosпотребнадзор, 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russia. +7 (8452) 26-21-31, +7 (905) 369-71-99, fax +7 (8452) 51-52-12, 3030774@mail.ru; rusrapi@microbe.ru. ©Kudryavtseva OM, et al.

¹ Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» Rospotrebnadzor, Saratov, Russia

² LLC Scientific and Production Enterprise «Nanostructural Glass Technology», Saratov, Russia

Abstracts

Relevance. As part of ensuring sanitary and epidemiological well-being, in the territory of natural plague foci of the Russian Federation, according to epidemiological indications, the population is vaccinated against this infection. The lack of a unified scheme for evaluating the effectiveness of vaccination dictates the need to develop universal express methods that allow screening studies of anti-plague immunity, including in the field. **Aims.** To evaluate the effectiveness of the express method for the direct detection of antibodies to *Yersinia pestis* in biological material using microstructural glass waveguides with a hollow core (MGW HC) as immunosensors in studying the dynamics of seroconversion in people vaccinated with the plague live people. **Materials and methods.** In the study, blood serum samples were taken from 30 individuals vaccinated according to epidemic indications with the live plague vaccine (PLV) and 30 volunteers who were not vaccinated and did not have a history of contact with the plague agent. **Results.** An assessment was made of the possibility of using the method of direct detection of antibodies using MGW HC at different time intervals according to the receipt of blood sera in the framework of monitoring vaccinated individuals from among the inhabitants of the Caspian sandy natural plague focus. The presence of specific antibodies to the F1 protein in the blood serum of vaccinated volunteers was revealed both with the help of ELISA and with the use of MGW HC. The speed of the method of direct detection of antibodies (maximum 2 minutes per test), the absence of the need to use species-specific secondary antibodies, enzymes and substrates and additional costs for laborious sample preparation were noted. **Conclusions.** The method of direct detection of antibodies using glass microstructural waveguides is promising for introduction into the list of express methods for assessing the immunological effectiveness of anti-plague vaccination.

Keywords: specific prevention of plague, detection of antibodies, glass microstructural waveguides with a hollow core
No conflict of interest declared.

For citation: Kudryavtseva OM, Skibina YuS, Kozhevnikov VA, et al. Direct detection of antibodies to *Yersinia pestis* using glass microstructural waveguides as an express method for assessing seroconversion in individuals vaccinated against plague. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 89–96 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-89-96>

The work was carried out as part of the research work according to the Decree of the Government of the Russian Federation № 2403-R dated October 12, 2019 (state registration number AAAA-A20-120012090032-0)

Введение

Многофакторность угроз возникновения и распространения особо опасных инфекций (ООИ) диктует необходимость комплексного подхода к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения. В современных условиях одним из эффективных методов профилактики чумы является своевременная вакцинация групп риска по заражению этой инфекцией. Одной из проблем специфической профилактики чумы является недолговременность защиты, обеспечиваемой вакциной живой чумной (ВЧЖ), и по этой причине существует необходимость ежегодного проведения вакцинальной кампании среди групп риска в ситуации энзоотической активности в природном очаге чумы.

Традиционным методом в арсенале средств оценки уровня иммунитета против чумы является серологический мониторинг, в ходе которого в биоматериале выявляют специфические антитела с помощью иммуноферментного или иммунофлуоресцентного анализов. Для серологического мониторинга за привитыми ВЧЖ лицами используется российский коммерческий препарат – тест-система иммуноферментная для выявления антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS».

В последние годы появляется всё больше работ, посвящённых изучению кинетики образования комплексов антиген-антитело без использования

хромогенных субстратов или иммунофлуоресцентных меток [1], развивается концепция биосенсоров – портативных устройств, позволяющих проводить динамическое наблюдение за формированием иммунных комплексов. Нами был разработан способ определения специфических антител в режиме реального времени с использованием стеклянных микроструктурных волноводов с поллой сердцевинной (СМВ ПС) в качестве оптических иммуносенсоров [2]. В структурной оболочке СМВ ПС анализируемые антитела избирательно связываются со специфическими для антитела антигенными молекулами, в результате чего происходит изменение положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания волновода с поллой сердцевинной. Кроме того, предложенный способ отличается быстротой и возможностью прямой детекции антител и других биомолекул и их конъюгатов без применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов.

Цель исследования – оценить эффективность экспресс-метода прямой детекции антител к *Yersinia pestis* в биологическом материале с использованием СМВ ПС в качестве иммуносенсоров при изучении динамики сероконверсии у привитых вакциной чумной живой людей.

Материалы и методы

Работа проводилась в рамках исследования, утвержденного локальным Этическим комитетом

ГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 5 от 02.02.2016 г.; регистрационный номер IRB00005197. Анкетирование, анализ медицинской документации (форма № 025/у) и сбор клинического материала проводили на основании письменного информированного согласия добровольцев.

Индикаторные группы

В исследовании приняли участие работники специализированных противочумных учреждений, ежегодно прививаемые против чумы в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям*. Группы сравнения составляли 30 волонтеров из числа жителей г. Элисты, ранее не вакцинированных ВЧЖ и не входящих в группу риска по контакту с возбудителем или переносчиками чумы.

Иммунизацию вакциной живой чумной проводили препаратом ВЧЖ (ЛСР-005759/08) производства «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Россия), серия 2–16.

Забор крови из локтевой вены осуществляли в пробирки с активатором свертывания (Vacutest KIMA, Италия). В соответствии с протоколом исследования кровь забирали до вакцинации, а также через 1, 6 и 12 месяцев после прививки.

Выделение и очистку белка капсульного антигена (F1) чумного микроба осуществляли из вакцинного штамма *Yersinia pestis* линии НИИЭГ (Государственная коллекция патогенных бактерий Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» согласно описанному ранее способу [3].

Детекцию специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба проводили с помощью тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Россия), используя иммуноферментный анализатор Stat Fax-3200 (Awareness Technology, США) и методом прямого определения специфических антител в исследуемых образцах сыворотки крови в режиме реального времени [2]. В работе использовали СМВ ПС производства ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла» г. Саратов [4]. Для детекции специфических антител в исследуемых образцах применяли водный раствор антигена F1 вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ в концентрации 5 мкг/мл, который смешивали с исследуемыми образцами сывороток от вакцинированных или не вакцинированных ВЧЖ лиц из контрольной группы, разведенными фосфатно-солевым буфером (PBS) в соотношении 1:400. Для детекции показателя присутствия специфического

комплекса антиген-антитело в указанном образце его вносили в структурную оболочку СМВ ПС, соединенного с источником излучения. Результаты регистрировали при помощи оптической схемы и спектроанализатора Ocean Optics (США) со встроенным программным обеспечением. Полученные результаты обрабатывались при помощи математического аппарата, встроенного в программное обеспечение спектроанализатора.

Результаты и обсуждение

Анализ данных многолетнего иммунологического мониторинга уровня специфических антител к F1 *Y. pestis* у привитых против чумы контингентов показал, что фаза стабилизации выработки антител, или стационарный период, в течение которого титр специфических антител к F1 *Y. pestis* остаётся стабильно высоким, составляет 3–6 месяцев после вакцинации. В предыдущих работах установлено, что антительный ответ на ВЧЖ характеризуется вариабельностью и регистрируется в широком диапазоне – от 4 до 85% привитых в зависимости от кратности предыдущих вакцинаций [5,6].

Изучение показателей специфического антительного ответа выявило повышение доли лиц с более высокими титрами специфических антител к капсульному антигену F1 *Y. pestis* в сыворотке крови волонтеров, привитых ВЧЖ многократно (пять и более раз). Так, при первой иммунизации добровольцев выраженный гуморальный ответ (титр специфических антител к F1 чумного микроба 1:160 и выше) наблюдался только у 53% привитых. При повторной вакцинации сероконверсия наблюдалась уже у 71%, а у привитых 5 и более раз – более чем у 80% вакцинированных независимо от срока наблюдения [7]. Изменения в иммунном ответе в зависимости от количества прививок частично объясняется феноменом «иммунологической памяти», при котором повторное введение антигена приводит к заметному увеличению выработки антител по сравнению с первичным ответом и антитела вторичного иммунного ответа циркулируют в крови более продолжительное время [8].

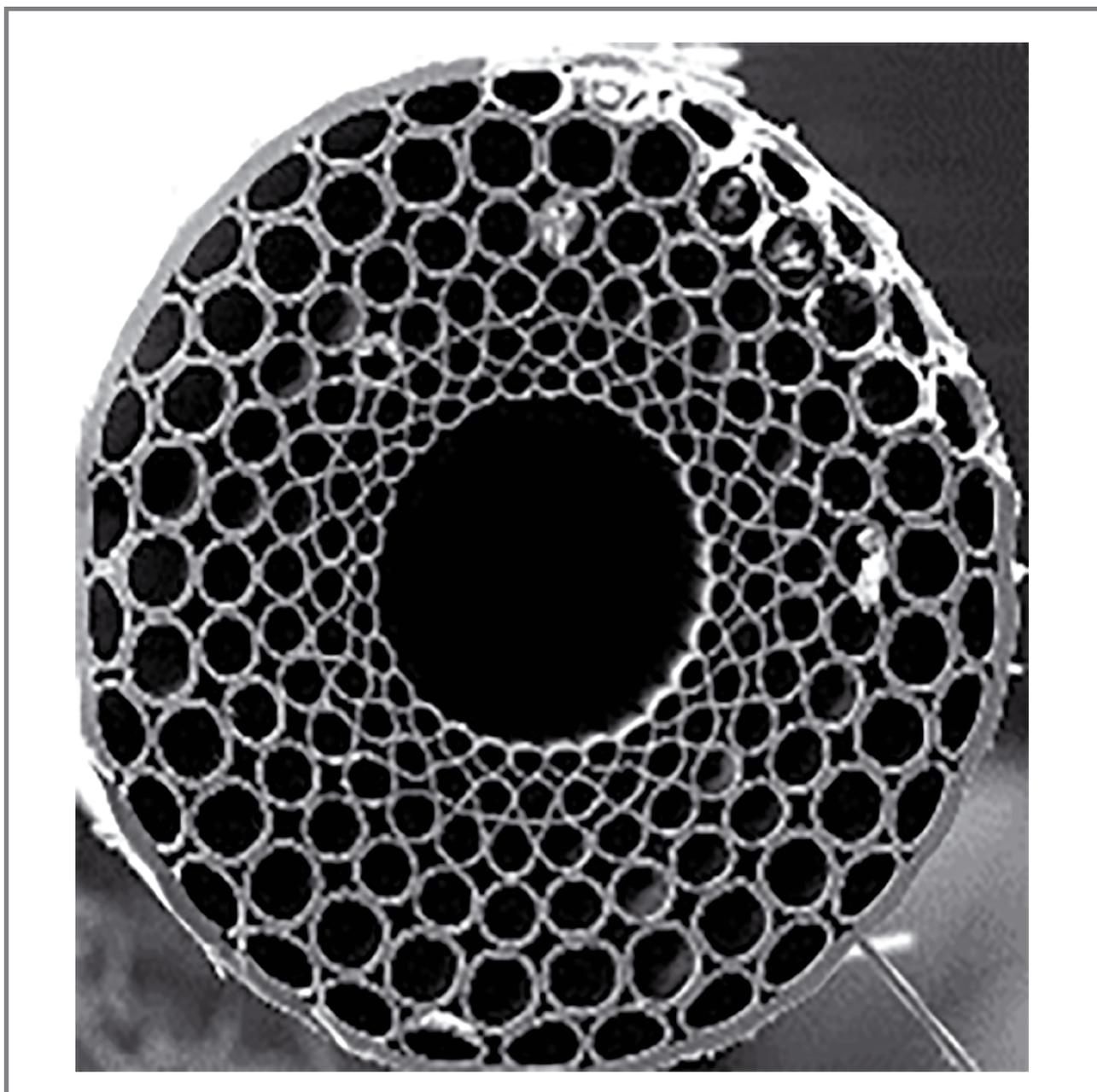
Учитывая выявленные особенности формирования и динамики антительного ответа, в эксперименте по тестированию прямого метода обнаружения антител с помощью СМВ ПС были отобраны сыворотки привитых ВЧЖ пять и более раз через 6 месяцев (период максимального антителообразования) после иммунизации. Детекцию специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микроба в сыворотках проводили параллельно методом ИФА и с применением СМВ ПС. Контролем служили сыворотки невакцинированных лиц. Титры специфических антител к F1 на уровне или выше диагностического (1:80–1:1280) отмечали у 90% привитых. В контрольной группе непривитых людей антитела обнаружены не были (табл. 1).

* Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям (приложение №2 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок» от 6 декабря 2021 г. N 1122Н

Таблица 1. Процентное соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных ВЧЖ, через 6 месяцев после прививки и у лиц контрольной группы
Table 1. Percentage of antibody titers to *Y. pestis* F1 in people vaccinated with HPV 6 months after vaccination and in the control group

Группы	Обратные значения титров антител к капсульному антигену (F1) <i>Y. pestis</i> / values of antibody titers for capsular antigen (F1) <i>Y. pestis</i>					
	40	80*	160	320	640	1280
	Количество людей с зарегистрированными значениями титров Number of people with registered title values					
Опытная группа Experimental group (n = 30)	3 (10%)	7 (23,3%)	6 (20%)	11 (36,7%)	3 (10%)	0
Контрольная группа (не вакцинированные) Control group (unvaccinated) (n = 30)	30 (100%)	0	0	0	0	0

Рисунок 1. Спектр микроструктурного волновода (на вставке – поперечное сечение волновода)
Figure 1. Spectrum of a microstructural waveguide (on the insert is the cross section of the waveguide)



Для количественного определения специфических антител в стандартных иммунологических методиках используют геометрический ряд разведений анализа (сывороток крови). Оптимальное разведение сыворотки, содержащее в своем составе специфические антитела в среднем, составляет 1:100–1:800. В этом диапазоне существует прямо пропорциональная связь между показателем оптической плотности и значением титра антител данной сыворотки [8]. С учётом изложенного, в экспериментах по использованию СМВ ПС в качестве иммуносенсоров нами был проведён подбор оптимальной концентрации исследуемой сыворотки и белка F1, полученного путем фракционирования культуральной жидкости вакцинного штамма *Y. pestis* EV с осаждением целевого белка в изoeлектрической точке. Установлено, что прямая детекция антител СМВ ПС проходит с наиболее высокой специфичностью при взаимодействии опытной или контрольной сывороток, разведённых PBS в соотношении 1:400 с белком F1 в концентрации 5 мкг/мл.

Уникальные свойства СМВ ПС позволяют на их основе создать компактные, высокоэффективные и лёгкие в использовании волоконные устройства.

При длине в 6 см и диаметре полой сердцевины 180 мкм для проведения анализа необходимо всего лишь 10–15 мкл жидкости, что существенно меньше тех объёмов, которые необходимы для анализа в лунках планшета при ИФА. Волокна СМВ ПС, в которых благодаря структурной оболочке реализована возможность получения оптических частотных гребёнок, позволяют комбинировать методы рефрактометрии и спектроскопии (рис. 1).

Специфический комплекс, образованный смешиванием молекул антигена с опытными образцами сыворотки от людей, иммунизированных ВЧЖ, детектировали в массиве структурной оболочки СМВ ПС в режиме реального времени путём измерения оптического спектра, зондирующего связывание аналитов. По мере образования комплексов антиген-антитело измеряли новые положения локальных максимумов спектра пропускания волновода, обусловленные ростом светорассеяния внутри сердцевины, заполненной образцом, и осуществляли построение линейной зависимости положения локальных максимумов спектра пропускания волновода от количества образованных комплексов антиген-антитело.

Рисунок 2. Спектр пропускания СМВ ПС с полой сердцевинной, заполненной реакционной смесью. А – смесь белка F1 и контрольной сыворотки, не содержащей специфические антитела к F1; Б – смесь белка F1 и опытной сыворотки

Figure 2. Transmission spectrum of an MGH CW with a hollow core filled with the reaction mixture. Transmission spectrum of an MCF with a hollow core filled with the reaction mixture. A – a mixture of F1 protein and control serum that does not contain specific antibodies to F1. A – a mixture of F1 protein and control serum that does not contain specific antibodies to F1

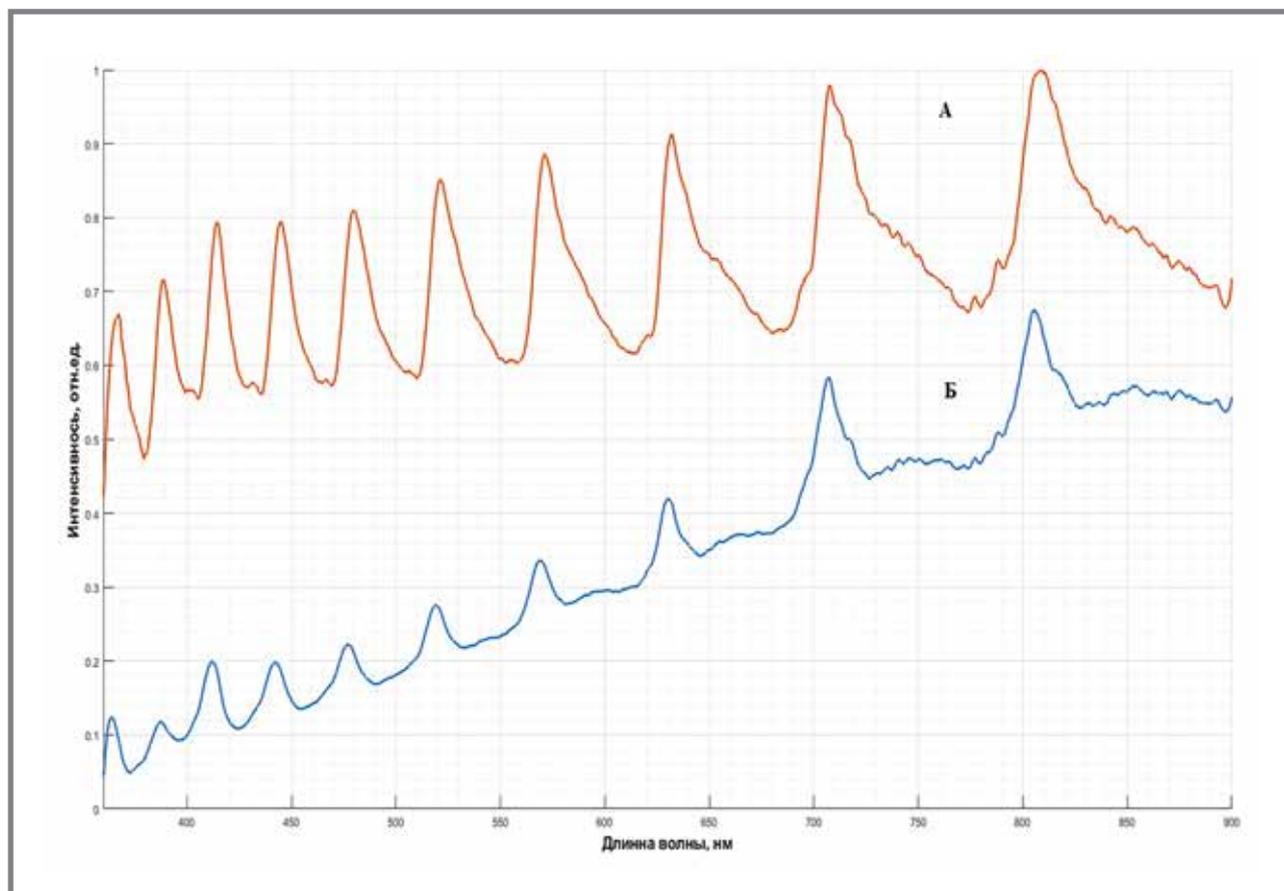
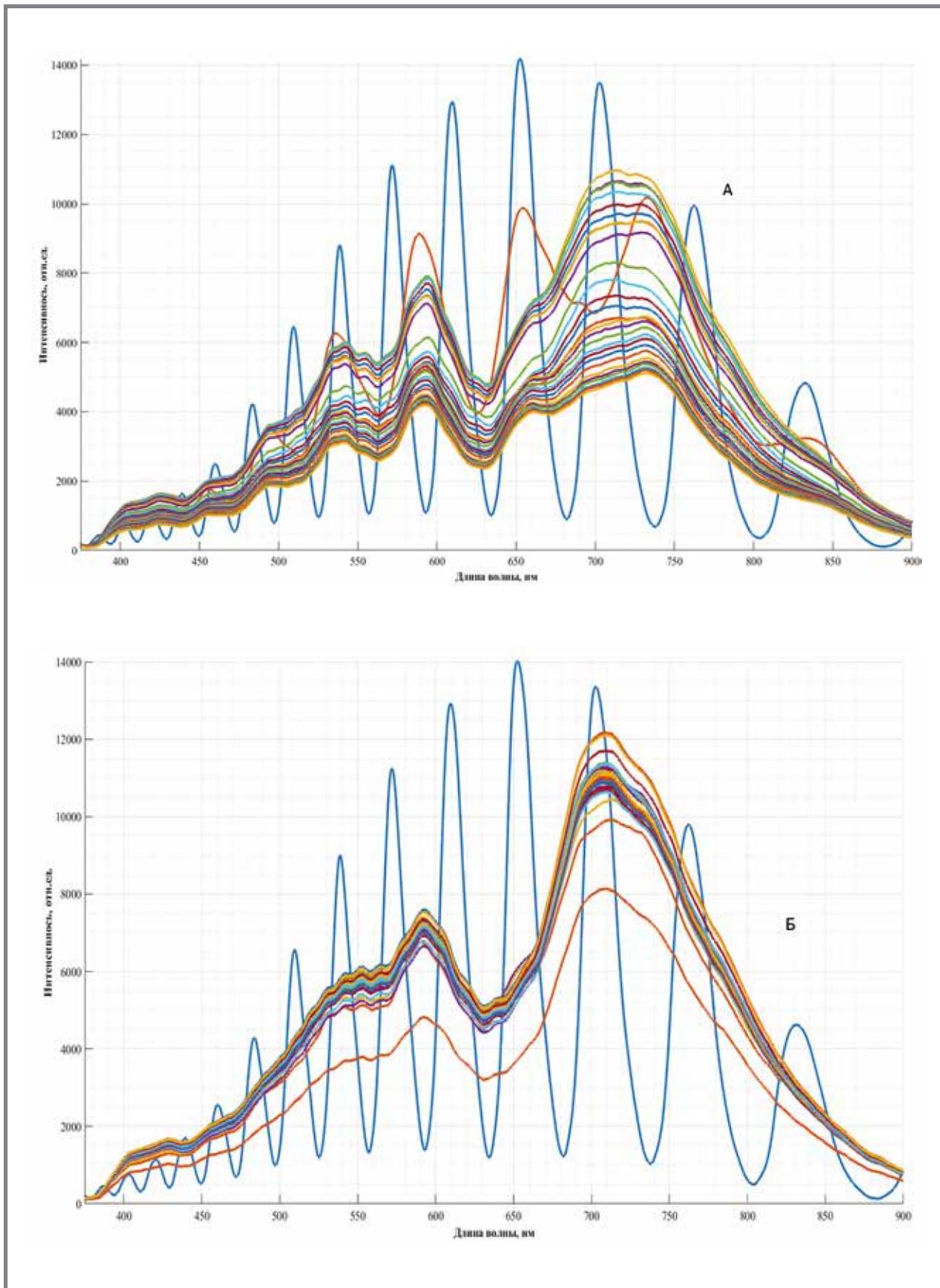


Рисунок 3. Изменение в режиме реального времени положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания СМВ ПС, заполненного реакционной смесью белка F1 и опытной сыворотки, содержащей анализируемые антитела (А) и контрольной сыворотки, не содержащей анализируемые антитела (Б)
Figure 3. Real-time change in the position and shape of local maxima in the transmission spectrum of the MGH CW filled with the reaction mixture of F1 protein and experimental serum containing analyzed antibodies (A) and control serum without analyzed antibodies (B)



Образование иммунных комплексов в опытной пробе, содержащей сыворотку от вакцинированного ВЧЧ человека, приводило к увеличению светорассеяния и, как следствие, к падению интенсивности и характерному изменению спектра (рис. 2Б). В контрольной пробе от не вакцинированного против чумы волонтера комплекс антиген-антитело не образовывается, и на графике наблюдается максимальная интенсивность спектра вследствие минимального светорассеяния (рис. 2А).

Для установления оптимального количества времени, необходимого для детектирования комплекса антиген-антитело, была изучена динамика изменения оптического спектра, зондирующего связывание анализов. Нами обнаружено, что изменение положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания СМВ ПС, заполненного реакционной смесью белка F1 и опытной сыворотки, содержащей анализируемые антитела, происходит за короткий промежуток времени. Путём измерений в режиме реального времени установлено, что достаточно 1–2 минут, чтоб зафиксировать основную динамику изменения в спектре пропускания СМВ ПС, свидетельствующую об образовании иммунного комплекса и достаточную для проведения качественной реакции с целью выявления присутствия в исследуемом образце искомых антител (рис. 3А). В отличие от опытных образцов, в контрольных пробах не выявлено значимых изменений динамики интенсивности светорассеяния в полостях СМВ ПС (рис. 3Б).

При изучении взаимодействия сывороток привитых людей с белком F1 в полостях СМВ ПС отмечали смещение интенсивности или сдвига кривой светорассеяния в тех же пробах, что и при использовании традиционного метода ИФА. В контрольных сыворотках изменений в оптическом спектре не наблюдали. Высокая чувствительность прямого метода детекции позволила обнаружить образование иммунных комплексов при исследовании сывороток от привитых ВЧЖ людей, в которых при исследовании классическим методом ИФА титр антител был ниже диагностического (1:80).

Следует отметить, что в отношении чумы до настоящего времени не определен уровень специфических антител, необходимый для обеспечения защиты макроорганизма от заболевания. Оценка фактической привитости ВЧЖ только по серологическим тестам не может в полной мере отражать истинное состояние иммунобиологической перестройки организма в ответ на введение ВЧЖ [9]. Так, у части прививаемого ВЧЖ контингента высокий уровень антител может сохраняться больше года с момента вакцинации, в то время как у других людей, в том числе перенесших чуму, сероконверсия не достигает 100% [10].

Изменение специфического гуморального ответа при чуме связано с особенностями функционирования всех систем, участвующих в формировании адаптивного иммунного ответа, поэтому

целесообразно оценивать фактическую привитость по совокупности гуморальных и клеточных реакций организма на введение вакцины. Информационной основой для комплексного анализа динамических изменений иммунного статуса вакцинируемых людей служат аналитические базы, позволяющие аккумулировать индивидуальные данные от каждого обследуемого человека по целому ряду ключевых и дополнительных тестов. Разработанный экспресс-метод прямой детекции антител с помощью СМВ ПС, наряду с классическим методом ИФА и другими иммунологическими методами, может быть использован для оценки эффективности проводимой против чумы вакцинации. Преимущества способа оценки антител с помощью СМВ ПС – его быстрота и возможность использования в полевых условиях без трудоёмкой пробоподготовки, что расширяет возможности оценки гуморального иммунитета обследуемого контингента на территории природных очагов за счёт широкого охвата населения удалённых территорий. Далее, на базе массива сохранённых и упорядоченных данных возможна разработка алгоритма индивидуальной оценки сроков формирования и сохранения поствакцинального иммунитета у привитого контингента, что даёт возможность прогнозировать характер и интенсивность иммунного ответа у привитых людей, а также выделять параметры, определяющие риск формирования неадекватного иммунного ответа на вакцину.

Заключение

В проведённых экспериментах по детекции иммунных комплексов в исследуемом материале с использованием мультифункциональной сенсорной платформы на основе МСВ были выявлены следующие преимущества использования данного способа:

- Быстрота (максимум 2 минуты на один тест, причем прямое измерение длится 55 секунд).
- Отсутствие необходимости применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов, что приводит к снижению трудоёмкости и многоэтапности исследования.
- Универсальность, т.к. предложенный способ детекции может быть использован для прямой детекции не только антител, но и множества биомолекул и их конъюгатов.
- Отсутствие необходимости в громоздком дорогостоящем оборудовании и специально обученном персонале.

Преимущества экспресс-метода обнаружения антител позволяют проводить скрининг биоматериала в полевых условиях, характеризуя сероконверсию у лиц из групп риска, проживающих на отдалённых и труднодоступных территориях природных очагов опасных и особо опасных инфекционных болезней. Дальнейшее внедрение в практику современных технологий, основанных на использовании антиген-специфических тестов *in vitro* в базовый алгоритм оценки эффективности

применения ВЧЖ будет способствовать совершенствованию профилактических мероприятий как составной части эпидемиологического надзора за чумой.

Литература

1. Коновалова О. А., Анчикова Л. И., Нагулин К. Ю. и др. Способ определения аутоантител и способ диагностики аутоиммунного тиреозита. Патент РФ на изобретение № 2315313. 20.01.2008. Бюл. №2. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2315313> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
2. Кудрявцева О. М., Кожевников В. А., Бугоркова С. А. и др. Способ детекции антител в биоматериале с использованием стеклянных микроструктурных волноводов. Патент РФ на изобретение № 2753856. 24.08.2021. Бюл. № 24. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2753856> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
3. Титенко М. М., Вейнблат В. И., Веренков М. С. и др. Препаративный метод выделения и очистки капсульного антигена возбудителя чумы при помощи изоэлектрической преципитации. В сб.: Диагностика и профилактика особо опасных инфекций. Саратов: Коммунист; 1983. С. 34–39.
4. Скибина Ю. С., Гюнтер Ш. Чипированный микроструктурный волновод и способ его изготовления. Патент РФ на изобретение № 2606796. 10.01.2017. Бюл. № 1. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2606796> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
5. Бугоркова С. А., Ключева С. Н., Кудрявцева О. М. и др. Иммунологический мониторинг вакцинированных против чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге для оценки и управления рисками здоровью населения. Анализ риска здоровью. 2020. № 4. С. 121–129.
6. Корытов К. М., Войткова В. В., Дубровина В. И. и др. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге // Acta bio-medica scientifica. 2019. Т. 4, №5. С. 31–37.
7. Кудрявцева О. М., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А. и др. Анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, вакцинированных живой чумной вакциной. Здоровье населения и среда обитания. 2020. № 6 (327). С. 17–24.
8. Иммунологические методы. Фримель Г., ред. М.: Медицина; 1987
9. Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., et al. Early diagnosis of bubonic plague using F1 antigen capture ELISA assay and rapid immunogold dipstick. Int J Med Microbiol. 2000. Vol. 290, N 3. P. 279–283.
10. Sagiyev Z., Berdibekov A., Bolger T., et al. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14, № 6. e0218366.

References

1. Konovalova OA, Anchikova LI, Nagulin KI, Sposob opredeleniya autoantitel i sposob diagnostiki autoimmunnogo tireoidita. Patent RUS №2315313. 20.01.2008. Byul. №2. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2315313> Accessed: 26 May 2022 (In Russ).
2. Kudryavtseva OM, Kozhevnikov VA, Bugorkova SA, et al. Sposob detekcii antitel v biomaterialie s ispol'zovaniem steklyannykh mikrostrukturnykh volnovodov Patent RUS №2753856. 24.08.2021 Byul. №24. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2753856> Accessed: 26 May 2022. (In Russ).
3. Titenko MM, Veinblat VI, Verenkov MS, et al. Preparativnyi metod vydeleniya i ochildki kapsul'nogo antigena vozбудitelya chумы pri pomoshchi izoelektricheskoi pretsipitatsii. In: Diagnostika i profilaktika osobno opasnykh infektsii. Saratov: Kommunist; 1983. P. 34–39 (In Russ).
4. Skibina JS, Gyunter Sh. Chipirovannyi mikrostrukturnyi volnovod i sposob ego izgotovleniya. Patent RUS №2606796. 10.01.2017. Byul. №1. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2606796> Accessed: 26 May 2022 (In Russ).
5. Bugorkova SA, Klyueva SN, Kudryavtseva OM, et al. Immunologic monitoring over people vaccinated against plague in caspian sand natural focus in order to assess and manage health risks. Health Risk Analysis. 2020;4:121–129 (In Russ). doi: 10.21668/health.risk/2020.4.14.eng
6. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, et al. Efficiency of Human Plague Vaccination in Tuvinian Natural Plague Focus. Acta biomedica scientifica. 2019;4(5): 31–37 (In Russ). doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5
7. Kudryavtseva OM, Goncharova AY, Bugorkova SA, et al. Analiz faktorov, vliyayushchikh na immunologicheskuyu reaktivnost' lits, vaksinirovannykh zhivoi chumnoi vaktsinoi. Zdorove naseleniya i sreda obitaniya. 2020;6(327). 17–24 (In Russ). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-327-6-17-24>
8. Frimel' G, editor. Immunologicheskie metody. Moscow: Meditsina; 1987 (In Russ).
9. Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., et al. Early diagnosis of bubonic plague using F1 antigen capture ELISA assay and rapid immunogold dipstick // Int J Med Microbiol. 2000;290(3):279–283. doi: 10.1016/S1438-4221(00)80126-5.
10. Sagiyev Z, Berdibekov A, Bolger T, et al. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. PLoS ONE. 2019;14(6):e0218366.doi: 10.1371/journal.pone.0218366. eCollection 2019.

Об авторах

- **Ольга Михайловна Кудрявцева** – к. б. н., старший научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0002-9894-3394.
- **Юлия Сергеевна Скибина** – к. ф.-м. н., директор, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2505-6396.
- **Виталий Александрович Кожевников** – младший научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7267-7027.
- **Светлана Александровна Бугоркова** – заведующая отделом, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7548-4845.
- **Михаил Валерьевич Чайников** – главный инженер, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-7860-1039.
- **Алексей Юрьевич Грязнов** – старший научный сотрудник, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-8997-5271.
- **Дмитрий Евгеньевич Глухов** – директор по инновациям, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0001-9037-4564.
- **Светлана Сергеевна Коннова** – старший научный сотрудник, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-1282-7980.
- **Андрей Александрович Шувалов** – заместитель начальника научно-исследовательского отдела, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2059-999X.
- **Татьяна Николаевна Щуковская** – главный научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-8995-0895.

Поступила: 16.06.2022. Принята к печати: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

About the Authors

- **Olga M. Kudryavtseva** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, 3030774@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9894-3394.
- **Julia S. Skibina** – Cand. Sci. (Phys.-Math.), director, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2505-6396.
- **Vitalii A. Kozhevnikov** – Junior researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7267-7027.
- **Svetlana A. Bugorkova** – Chief Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7548-4845.
- **Mikhail V. Chainikov** – Chief Engineer, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-7860-1039.
- **Aleksei Yu. Gryaznov** – Senior Researcher, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-8997-5271.
- **Dmitrii E. Glukhov** – director of innovation, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0001-9037-4564.
- **Svetlana S. Konnova** – Senior Researcher, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-1282-7980.
- **Andrei A. Shuvalov** – Deputy Head of Research Department, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2059-999X.
- **Tatyana N. Shchukovskaya** – Chief Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-8995-0895.

Received: 16.06.2022. Accepted: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-97-103>

Синергический эффект ферментных препаратов и гентамицина на биоплёнки *Bordetella pertussis*

Е. М. Зайцев*, М. В. Брицина, М. Н. Озерецковская, И. Г. Бажанова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

Резюме

Актуальность. Рост заболеваемости коклюшем, высокий удельный вес тяжёлых форм заболевания, снижение чувствительности циркулирующих штаммов *B. pertussis* к антибиотикам требуют разработки более эффективных средств этиотропной терапии, в том числе способных влиять на биоплёночные формы возбудителя коклюша, отличающихся от планктонных клеток повышенной устойчивостью к иммунной системе хозяина и антибактериальным препаратам. **Цель.** Изучение влияния трипсина и лидазы в сочетании с гентамицином на рост биоплёнок штаммов *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате. **Материалы и методы.** В опытах использовали выделенные в РФ от больных коклюшем в 2001–2010 гг. штаммы *B. pertussis*: № 178 (серовар 1.2.0), № 287 (серовар 1.0.3) и № 317 (серовар 1.2.3), выращенные на плотной питательной среде. Интенсивность образования биоплёнок в жидкой питательной среде в присутствии трипсина (10 мкг/мл), лидазы (20 МЕ/мл), гентамицина (2,0 мг/мл, 0,4 мг/мл и 0,08 мг/мл) и их сочетаний в круглодонных полистироловых 96-луночных планшетах оценивали окрашиванием 0,1% раствором генциан-фиолетового. **Результаты.** Гентамицин частично подавлял формирование биоплёнок и вызывал частичное разрушение сформированных биоплёнок при отсутствии роста микробных колоний при посеве надосадочных жидкостей из биоплёночных культур на плотную питательную среду. Минимальная подавляющая концентрация гентамицина (МПК) составила 2 мг/мл. Трипсин полностью подавлял рост биоплёнок и вызывал полное разрушение сформированных биоплёнок. Лидаза также подавляла рост биоплёнок, однако менее эффективно влияла на сформированные биоплёнки. При посеве надосадочных жидкостей из биоплёночных культур в присутствии трипсина и лидазы на плотную питательную среду был отмечен рост типичных для *B. pertussis* колоний. Трипсин в сочетании со всеми исследованными концентрациями гентамицина полностью подавлял рост биоплёнок (МПК 0,08 мг/мл), а в сочетании с гентамицином в концентрации 2,0 мг/мл вызывал полное разрушение биоплёнок при отсутствии микробного роста на плотной питательной среде. Лидаза в сочетании со всеми исследованными концентрациями гентамицина также подавляла формирование биоплёнок (МПК 0,08 мг/мл), а в сочетании с гентамицином в концентрации 2,0 мг/мл вызывала частичное разрушение сформированных биоплёнок при отсутствии микробного роста на плотной питательной среде. **Заключение.** Выявлен синергический эффект комбинаций трипсина и лидазы с гентамицином на растущие и сформированные биоплёнки штаммов *B. pertussis*. Совместное использование трипсина или лидазы с гентамицином позволило снизить его МПК для растущих биоплёнок в 25 раз. Наиболее выраженным эффектом в отношении сформированных биоплёнок отличалась комбинация трипсина с гентамицином в концентрации 2 мг/мл, вызывавшая их полное разрушение и гибель планктонных клеток. Эффект комбинации лидазы с гентамицином на сформированные биоплёнки был менее выраженным.

Ключевые слова: штаммы *B. pertussis*, биоплёнки, планктонные клетки, трипсин, лидаза, гентамицин
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Зайцев Е. М., Брицина М. В., Озерецковская М. Н. и др. Синергический эффект ферментных препаратов и гентамицина на биоплёнки *Bordetella pertussis*. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6): 97–103. <https://doi:10.31631/2073-3046-2022-21-6-97-103>

Synergistic Effect of Enzyme Preparations and Gentamycin on Biofilms of *Bordetella pertussis*

EM Zaitsev**, MV Britsina, MN Ozeretskovskaya, IG Bazhanova

Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia

Abstract

Relevance. An increase in the incidence of whooping cough, a high proportion of severe forms of the disease, and a decrease in the sensitivity of circulating strains of *B. pertussis* to antibiotics require the development of more effective etiotropic therapies, including those capable of influencing biofilm forms of the whooping cough pathogen, which differ from planktonic cells by increased resistance to the host immune system and antibacterial drugs.

* Для переписки: Зайцев Евгений Михайлович, д. м. н., заведующий лабораторией иммуномодуляторов, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Россия, 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а. +7 (495) 916-22-63, lab.immunomod@yandex.ru. ©Зайцев Е. М. и др.

** For correspondence: Zaitsev Evgeny M., Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Immunomodulators, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», 5a Maly Kazenny Pereulok, Moscow, 105064, Russia. +7 (495) 916-22-63, lab.immunomod@yandex.ru. ©Zaitsev EM, et al.

Aim of the work is to study the effect of trypsin and lidase in combination with gentamycin on the growth of biofilms of *Bordetella pertussis* strains on an abiotic substrate. **Materials and methods.** In the experiments *B. pertussis* strains isolated in the Russian Federation from whooping cough patients in 2001–2010 were used: No. 178 (serotype 1.2.0), No. 287 (serotype 1.0.3) and No. 317 (serotype 1.2.3), grown on a dense nutrient medium. The intensity of biofilm formation in a liquid nutrient medium in the presence of trypsin (10 mcg/ml), lidase (20 IU/ml), gentamycin (2.0 mg/ml, 0.4 mg/ml and 0.08 mg/ml) and their combinations in round-bottomed polystyrene 96-well plates was evaluated by staining with 0.1% gentian-violet solution. **Results.** Gentamycin partially suppressed the formation of biofilms and caused partial destruction of the formed biofilms in the absence of growth of microbial colonies when sowing supernatants from biofilm cultures on a dense nutrient medium. The minimum suppressive concentration of gentamycin (MSC) was 2 mg/ml. Trypsin completely suppressed the growth of biofilms and caused the complete destruction of the formed biofilms. Lidase also suppressed the growth of biofilms, but less effectively affected the formed biofilms. The growth of colonies typical of *B. pertussis* was noted when sowing supernatants from biofilm cultures in the presence of trypsin and lidase on a dense nutrient medium. Trypsin in combination with all the studied concentrations of gentamycin completely suppressed the growth of biofilms (MSC 0.08 mg/ml), and in combination with gentamycin at a concentration of 2.0 mg/ml caused complete destruction of biofilms in the absence of microbial growth on a dense nutrient medium. Lidase in combination with all the studied concentrations of gentamycin also suppressed the formation of biofilms (MSC 0.08 mg/ml), and in combination with gentamycin at a concentration of 2.0 mg/ml caused partial destruction of the formed biofilms in the absence of microbial growth on a dense nutrient medium. **Conclusion.** The synergistic effect of the combination of trypsin and lidase with gentamycin on growing and formed biofilms of *B. pertussis* strains was revealed. The combined use of trypsin or lidase with gentamycin reduced its MSC for growing biofilms by 25 times. The most pronounced effect on the formed biofilms was the combination of trypsin with gentamycin at a concentration of 2 mg/ml, which caused their complete destruction and death of planktonic cells. The effect of the combination of lidase with gentamycin on the formed biofilms was less pronounced.

Keywords: *B. pertussis* strains, biofilms, planktonic cells, trypsin, lidase, gentamycin
No conflict of interest to declare.

For citation: Zaitsev EM, Britsina MV, Ozeretskoykaya MN, et al. Synergistic effect of enzyme preparations and gentamycin on biofilms of *Bordetella pertussis*. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 97–103 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-97-103>

Введение

Коклюш остается актуальной проблемой здравоохранения во всем мире, в том числе в странах с высоким охватом вакцинацией, где с 1990 гг. отмечается рост заболеваемости, в том числе в тяжелой форме, и летальности [1–3]. В последние годы наметилась тенденция к снижению чувствительности циркулирующих штаммов *B. pertussis* к антибиотикам, в том числе к макролидам [4]. Наряду с другими факторами, одной из вероятных причин продолжающейся циркуляции возбудителя коклюша может быть персистенция в респираторном тракте биоплёнок *B. pertussis*, отличающихся от планктонных клеток повышенной устойчивостью к иммунной системе хозяина и антибактериальным препаратам [5]. Рост заболеваемости коклюшем, высокий удельный вес тяжелых форм заболевания, снижение чувствительности циркулирующих штаммов *B. pertussis* к антибиотикам требуют разработки более эффективных средств этиотропной терапии, в том числе способных влиять на биоплёночные формы возбудителя коклюша. Полимерный матрикс является важным структурным компонентом биоплёнок, защищающим бактерии от повреждающих факторов внешней среды. Перспективным направлением борьбы с биоплёнками целого ряда возбудителей является использование ферментных препаратов, разрушающих их матрикс, в комбинации с антибиотиками [6].

Чувствительность биоплёнок *B. pertussis* к ферментным препаратам в сочетании с антибиотиками практически не изучена, в доступной литературе отсутствуют публикации по данной проблеме.

Цель работы – изучение влияния трипсина и лидазы в сочетании с гентамицином на рост биоплёнок *B. pertussis* на абиотическом субстрате.

Материалы и методы

В работе использовали выделенные в РФ от больных коклюшем в 2001–2010 гг.: штаммы *B. pertussis* № 178 (серовар 1.2.0), № 287 (серовар 1.0.3) и № 317 (серовар 1.2.3). В опытах использовали трипсин кристаллический, производитель ООО «Самсон–Мед», Россия; лидазу (гиалуронидаза), производитель АО «НПО «Микроген», Россия; гентамицина сульфат, раствор для инъекций (40 мг/мл), производитель РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь. Контроль морфологических, серологических и культуральных свойств штаммов проводили в соответствии с Методическими указаниями [7].

В качестве инокулята для получения биоплёнок использовали ночные культуры штаммов, выращенных на плотной питательной среде «Бордетелагар» (Питательная среда для культивирования и выделения коклюшного микроба сухая), производитель ФБУН ГНЦПМБ, г. Оболенск). Для образования биоплёнок бактерии культивировали в 96-луночных пластиковых планшетах (фирмы «Nunc», Дания) в жидкой синтетической

питательной среде в соответствии с ранее описанным методом [8]. Культуры штаммов в жидкой синтетической питательной среде в концентрации 10 МОЕ (10 млрд. микробных клеток/мл) в объёме 0,1 мл вносили в лунки планшетов, затем в лунки добавляли: гентамицин в дозах 2 мг/мл, 0,4 мг/мл и 0,08 мг/мл в объёме 0,1 мл; трипсин в дозе 10 мкг/мл в объёме 0,1 мл; лидазу в дозе 20 МЕ/мл в объёме 0,1 мл; смесь гентамицина в дозах 2 мг/мл, 0,4 мг/мл и 0,08 мг/мл с ферментами (трипсин в дозе 10 мкг/мл и лидаза в дозе 20 МЕ/мл) в объёме 0,1 мл. Планшеты выдерживали в термостате при 37 °C в течение 24 ч., после чего из лунок каждого образца осторожно отбирали надосадочную жидкость в объёме 0,1 мл и высевали на косяки с плотной питательной средой (Бордетелагар), которые инкубировали в термостате при 37 °C в течение 3 суток. Для изучения влияния препаратов на сформированные биоплёнки в лунки планшетов вносили по 0,1 мл культур штаммов при концентрации микробных клеток 10 МОЕ и 0,1 мл жидкой питательной среды. Планшеты выдерживали в термостате при температуре 37 °C 24 ч., после чего трижды промывали лунки планшет питательной средой, добавляли в лунки по 0,2 мл раствора препаратов в жидкой питательной среде в дозах, как было описано выше, и выдерживали планшеты в течение 2 ч. при 37 °C. После этого из лунок каждого образца осторожно отбирали надосадочную жидкость в объёме 0,1 мл и высевали на косяки с плотной питательной средой (Бордетелагар), которые инкубировали в термостате при 37 °C в течение 3 суток. Интенсивность образования биоплёнок в планшетах оценивали окрашиванием 0,1% раствором генциан-фиолета по показателям оптической плотности (ОП) окрашенного растворителя по отношению к негативному контролю ($OP_k = 0,047$), как плотные ($OP \geq 0,188$), умеренные ($0,094 \leq OP < 0,188$), слабые ($0,070 \leq OP < 0,094$), отсутствие биоплёнок ($0,047 < OP < 0,070$). Результаты оценивали по значениям доз использованных препаратов и их комбинаций, которые полностью подавляли рост биоплёнок по сравнению с контролем (отсутствие биоплёнок), а также вызывали значительное снижение интенсивности их роста (слабые биоплёнки). Для достоверного обобщения результатов использовали 4 лунки на один опытный образец и рассчитывали среднюю величину оптической плотности опытного образца и удвоенную ошибку. Сравнения проводили по критерию *t* Стьюдента [9].

Результаты и обсуждение

Результаты изучения влияния гентамицина, трипсина и лидазы на формирование биоплёнок штаммами *B. pertussis* представлены в таблице 1.

Контрольные культуры всех исследованных штаммов в данной серии опытов формировали умеренные биоплёнки. Все исследованные штаммы при формировании биоплёнок проявляли чувствительность

к трипсину, лидазе, гентамицину и комбинациям ферментных препаратов с гентамицином.

Трипсин и лидаза полностью подавляли рост биоплёнок. При посеве надосадочных жидкостей из культур в присутствии препаратов, а также из лунок с контролем культуры на плотную питательную среду был отмечен сплошной рост *B. pertussis*. Исследование морфологических свойств микробных клеток показало, что они представляют собой неподвижные, грамотрицательные, овоидной формы мелкие палочки, располагающиеся в мазках отдельно или парами, что характерно для коклюшного микроба.

Гентамицин в концентрации 2 мг/мл полностью подавлял рост биоплёнок (отсутствие биоплёнок), а в концентрации 0,4 мг/мл и 0,08 мг/мл вызывал значительное снижение ($p < 0,05$) интенсивности их роста (слабые биоплёнки). Таким образом, минимальная подавляющая концентрация (МПК) гентамицина составляла 2 мг/мл.

При посеве надосадочных жидкостей из культур со всеми исследованными концентрациями гентамицина на плотную питательную среду не было выявлено роста коклюшного микроба, что указывает на отсутствие жизнеспособных планктонных клеток.

Комбинации трипсина и лидазы со всеми рассматриваемыми концентрациями гентамицина полностью подавляли рост биоплёнок при отсутствии роста коклюшного микроба при посеве надосадочных жидкостей на плотную питательную среду. МПК гентамицина в комбинации с трипсином и лидазой составила 0,08 мг/мл.

В дальнейших опытах было изучено влияние гентамицина, трипсина и лидазы на сформированные биоплёнки, результаты которых представлены в таблице 2.

Трипсин вызывал значительное снижение ($p < 0,05$) плотности сформированных биоплёнок (слабые биоплёнки). Лидаза также вызывала снижение плотности биоплёнок (умеренные биоплёнки), однако менее выраженное по сравнению с трипсином ($p < 0,05$). При этом при посеве надосадочных жидкостей культур с трипсином и лидазой был отмечен сплошной рост микробов *B. pertussis*.

Гентамицин в концентрации 2 мг/мл и 0,4 мг/мл вызывал статистически значимое уменьшение ($p < 0,05$) плотности биоплёнок (слабые и умеренные биоплёнки) при отсутствии роста микробов на плотной питательной среде. В концентрации 0,08 мг/мл гентамицин вызывал снижение плотности биоплёнок (умеренные биоплёнки), однако оно не было статистически значимым по сравнению с контролем ($p > 0,05$). При посеве надосадочных жидкостей на плотную питательную среду был отмечен рост типичных для *B. pertussis* мелких колоний (86 ± 10 ; 83 ± 9 ; 101 ± 15 колоний у разных штаммов), размером 0,5 – 1,0 мм, выпуклых, круглых, с ровными краями, серого цвета, блестящих.

Таблица 1. Влияние гентамицина, трипсина и лидазы на рост биоплёнок разных штаммов *B. pertussis*
Table 1. The effect of gentamicin, trypsin and lidase on the growth of biofilms of different strains of *B. pertussis*

Оптическая плотность/ Интенсивность биоплёнок/Микробный рост на плотной питательной среде. Optical density/Intensity of biofilms/Microbial growth on a dense nutrient medium.			
Штаммы Strains	№ 317	№ 287	№ 178
Контроль культуры Culture control	0,156 ± 0,019/ умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,152 ± 0,020/ умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,155 ± 0,008/ умеренные/ сплошной moderate/ solid
Культура + гентамицин (2мг/мл) Culture + gentamicin (2 mg/ml)	0,068 ± 0,006/ нет/нет no/no	0,063 ± 0,007/ нет/нет no/no	0,064 ± 0,006/ нет/нет no/no
Культура+ гентамицин (0,4мг/мл) Culture + gentamicin (0,4 mg/ml)	0,087 ± 0,004/ слабые/ нет weak/no	0,083 ± 0,008/ слабые/нет weak/no	0,078 ± 0,006 слабые/нет weak/no
Культура+ гентамицин(0,08мг/мл) Culture + gentamicin (0,08 mg/ml)	0,089 ± 0,004 слабые/нет weak/no	0,089 ± 0,012/ слабые/нет weak/no	0,086 ± 0,008/ слабые/нет weak/no
Культура+ трипсин (10мкг/мл) Culture+ trypsin (10mcg/ml)	0,056 ± 0,004/ нет/ сплошной no/solid	0,057 ± 0,003/ нет/сплошной no/solid	0,055 ± 0,003/ нет/сплошной no/solid
Культура+ гентамицин (2мг/мл) + трипсин (10мг/мл) Culture+ gentamicin (2 mg/ml) + trypsin (10 mg/ml)	0,050 ± 0,002/ нет/нет no/no	0,050 ± 0,002/ нет/нет no/no	0,048 ± 0,002/ нет/нет no/no
Культура + гентамицин (0,4мг/мл) + трипсин (10мкг/мл) Culture + gentamicin (0.4 mg/ml) + trypsin (10 mcg/ml)	0,058 ± 0,006/ нет/нет no/no	0,054 ± 0,001/ нет/нет no/no	0,053 ± 0,001/ нет/нет no/no
Культура + гентамицин (0,08мг/мл) + трипсин (10мкг/мл) Culture + gentamicin (0.08 mg/ml) + trypsin (10 mcg/ml)	0,060 ± 0,001/ нет/нет no/no	0,063 ± 0,001 нет/нет no/no	0,061 ± 0,001 нет/нет no/no
Культура+ лидаза (20МЕ/мл) Culture+ lidase (20 IU/ml)	0,069 ± 0,009 нет/сплошной no/solid	0,068 ± 0,005 нет/сплошной no/solid	0,066 ± 0,002 нет/сплошной no/solid
Культура + гентамицин (2мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Culture + gentamicin (2 mg/ml) + lidase (20 IU/ml)	0,057 ± 0,004 нет/нет no/no	0,063 ± 0,007 нет/нет no/no	0,062 ± 0,007 нет/нет no/no
Культура + (0,4мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Culture + (0,4 mg/ml) + lidase (20 IU/ml)	0,064 ± 0,004 нет/нет no/no	0,067 ± 0,002 нет/нет no/no	0,065 ± 0,003 нет/нет no/no
Культура + гентамицин (0,08мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Culture + gentamicin (0,08 mg/ml) + lidase (20 IU/ml)	0,078 ± 0,003 слабые/нет weak/no	0,075 ± 0,004 слабые/нет weak/no	0,077 ± 0,002 слабые/нет weak/no

Комбинация трипсина с гентамицином в концентрации 2 мкг/мл приводила к полному разрушению сформированных биоплёнок при отсутствии микробного роста на плотной питательной среде. Трипсин в комбинации с гентамицином в концентрации 0,4 мкг/мл вызывал значительное ($p < 0,05$) снижение плотности биоплёнок (слабые биопленки) при отсутствии роста коклюшных микробов на плотной питательной среде. Комбинация трипсина с гентамицином в концентрации 0,08 мкг/мл

также снижала плотность биоплёнок (слабые биоплёнки). При посеве надосадочных жидкостей на плотную питательную среду был зарегистрирован рост типичных для *B. pertussis* колоний (174 ± 16 ; 202 ± 8 ; 194 ± 12 колоний).

Комбинация лидазы с гентамицином в концентрации 2 мкг/мл и 0,4 мкг/мл вызывала выраженное снижение ($p < 0,05$) плотности сформированных биоплёнок (слабые и умеренные биоплёнки) при отсутствии роста коклюшных микробов

Таблица 2. Влияние гентамицина, трипсина и лидазы на сформированные биоплёнки разных штаммов *B. pertussis*
Table 2. Effect of gentamicin, trypsin and lidase on the formed biofilms of different strains of *B. pertussis*

Оптическая плотность/ Интенсивность биоплёнок/Микробный рост на плотной питательной среде Optical density/Intensity of biofilms/Microbial growth on a dense nutrient medium.			
Штаммы Strains	№ 317	№ 287	№ 178
Контроль культуры (биоплёнки) Culture control (biofilms)	0,155 ± 0,015 умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,159 ± 0,016 умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,157 ± 0,006 Умеренные / сплошной moderate/ solid
Биоплёнки+ гентамицин (2мг/мл) Biofilms+ gentamicin (2 mg/ml)	0,076 ± 0,014 слабые/нет weak/no	0,098 ± 0,006 умеренные/нет moderate/no	0,108 ± 0,003 умеренные/ нет moderate/no
Биоплёнки+ гентамицин (0,4мг/мл) Biofilms+ gentamicin (0,4 mg/ml)	0,099 ± 0,022 умеренные/ нет moderate/no	0,100 ± 0,006 умеренные/нет moderate/no	0,100 ± 0,010 умеренные/ нет moderate/no
Биоплёнки+ гентамицин (0,08мг/мл) Biofilms+ gentamicin (0,08 mg/ml)	0,140 ± 0,022 умеренные/ 86 ± 10* moderate/ 86 ± 10*	0,131 ± 0,019 умеренные/ 83 ± 9 * moderate/ 83 ± 9 *	0,125 ± 0,025 умеренные/ 101 ± 5 * moderate/ 101 ± 5 *
Биоплёнки+ трипсин (10мг/мл) Biofilms+ trypsin (10mg/ml)	0,089 ± 0,012 слабые/ сплошной weak/ solid	0,087 ± 0,004 слабые/ сплошной weak/ solid	0,086 ± 0,003 слабые/ сплошной weak/ solid
Биоплёнки+ гентамицин (2мг/мл) + трипсин (10мкг/мл) Biofilms+ gentamicin (2 mg/ml) + trypsin (10 mcg/ml)	0,069 ± 0,009 нет/нет no/no	0,067 ± 0,005 нет/нет no/no	0,068 ± 0,005 нет/нет no/no
Биоплёнки+ гентамицин (0,4мг/мл) + трипсин (10мкг/мл) Biofilms + gentamicin (0,4 mg/ml) + trypsin (10 mcg/ml)	0,077 ± 0,015 слабые/нет weak/no	0,076 ± 0,004 слабые/нет weak/no	0,075 ± 0,006 слабые/нет weak/no
Биоплёнки + гентамицин (0,08мкг/мл) + трипсин (10мкг/мл) Biofilms + gentamicin (0,08mg/ml) +trypsin (10 mcg/ml)	0,082 ± 0,011 слабые /174 ± 6* weak /174 ± 6*	0,079 ± 0,013 слабые/202 ± 8* weak/ 202 ± 8 *	0,080 ± 0,006 слабые/194 ± 12* weak/194 ± 12*
Биоплёнки + лидаза (20МЕ/мл) Biofilms + lidase (20 IU/ml)	0,109 ± 0,012 умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,107 ± 0,001 умеренные/ сплошной moderate/ solid	0,110 ± 0,008 умеренные/ сплошной moderate/ solid
Биоплёнки + гентамицин (2мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Biofilms + gentamicin (2 mg/ml) + lidase (20 IU/ml)	0,088 ± 0,014 слабые/нет weak/no	0,092 ± 0,006 слабые/нет weak/no	0,083 ± 0,005 слабые/нет weak/no
Биоплёнки + гентамицин (0,4мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Biofilms + gentamicin (0,4 mg/ml) + lidase (20 IU/ml)	0,095 ± 0,012 умеренные/ нет moderate/no	0,097 ± 0,014 умеренные/нет moderate/no	0,094 ± 0,005 умеренные/ нет moderate/no
Биоплёнки + гентамицин (0,08мг/мл) + лидаза (20МЕ/мл) Biofilms + gentamicin (0,08 mg/ml) +lidase (20 IU/ml)	0,104 ± 0,011 умеренные/ 135 ± 8* moderate/135± 8*	0,102 ± 0,006 умеренные/ 96 ± 16* moderate/ 96 ± 16*	0,105 ± 0,007 умеренные/ 155 ± 19* moderate/ 155 ± 19*

Примечание: *количество отдельных колоний.
 Note: *the number of individual colonies.

на плотной питательной среде. Комбинация лидазы с гентамицином в концентрации 0,08 мкг/мл также вызывала снижение ($p < 0,05$) плотности биопленок (умеренные биоплёнки), однако был отмечен рост отдельных колоний *B. pertussis* на плотной питательной среде (135 ± 8; 96 ± 16; 155 ± 19 колоний).

Эффективность комбинированного действия ферментных препаратов, разрушающих матрикс биоплёнок, с антибиотиками показана в отношении ряда возбудителей. В частности, установлено,

что стафилокиназа подавляла рост грибково-бактериальных полимикробных биоплёнок (*C. albicans* и *S. aureus*), а также оказывала заметное влияние на зрелые биоплёнки самостоятельно или в сочетании с ванкомицином и флуконазолом [10]. При использовании ацетилцистеина в комбинации с амоксициллином/клавуланатом и амилазой было зарегистрировано значительное снижение жизнеспособности биоплёнок у всех из 12 исследованных штаммов *S. aureus in vitro* [11]. Гликозидгидролазы (смесь α -амилазы и целлюлазы) разрушали

биоплёнки *S. aureus* и *P. aeruginosa* in situ на модели инфицированных ран у мышей, однако вызывали быструю септицемию в течение 15 часов. Как местное, так и системное введение меропенема предотвращало дисперсию микробных клеток и защищало мышей от септицемии [12].

Для ферментативного разрушения матрикса биоплёнок штаммов *B. pertussis* мы использовали трипсин и лидазу, а в качестве антибактериального средства – гентамицин, обладающий высокой эффективностью в отношении грамотрицательных аэробных микроорганизмов, в том числе и в отношении *B. pertussis* [4]. Гентамицин значительно подавлял рост биоплёнок и вызывал частичное разрушение сформированных биоплёнок, приводя при этом к гибели планктонные клетки, о чём свидетельствует отсутствие микробного роста при посеве надосадочных жидкостей биоплёночных культур на плотную питательную среду. Минимальная подавляющая концентрация гентамицина составила 2 мг/мл. Трипсин и лидаза полностью подавляли рост биоплёнок и частично разрушали сформированные биоплёнки, но не оказывали влияния на жизнеспособность планктонных микробных клеток. Трипсин в сочетании со всеми исследованными концентрациями гентамицина полностью подавлял рост биоплёнок, а в сочетании с гентамицином в концентрации 2,0 мг/мл вызывал полное разрушение биоплёнок и гибель планктонных клеток. Лидаза в сочетании со всеми исследованными концентрациями гентамицина также полностью подавляла формирование биоплёнок, а в сочетании с гентамицином в концентрации 2,0 мг/мл и 0,4 мг/мл приводила к частичному разрушению сформированных биоплёнок при отсутствии жизнеспособных планктонных клеток. МПК гентамицина в комбинации с трипсином и лидазой составила 0,08 мг/мл. Таким образом, добавление трипсина и лидазы позволило снизить МПК гентамицина для растущих биоплёнок в 25 раз. Наиболее выраженным эффектом в отношении сформированных биоплёнок отличалась комбинация трипсина с гентамицином в концентрации 2 мг/л, вызывавшая их полное разрушение и гибель планктонных клеток. По сравнению с трипсином, влияние лидазы на сформированные биоплёнки было менее выраженным.

Приведённые данные позволяют сделать вывод о синергическом эффекте комбинаций трипсина и лидазы с гентамицином на растущие и сформированные биоплёнки исследованных штаммов *B. pertussis*. Трипсин и лидаза вызывали деструкцию биоплёнок за счёт разрушения соответствующих компонентов матрикса: протеолизом белков трипсином и расщеплением мукополисахаридов, содержащих уроновые кислоты лидазой. Полная или частичная деструкция биоплёнок сопровождалась переходом биоплёночных микробных клеток в планктонное состояние, что повышало их чувствительность к гентамицину.

По отношению ко всем штаммам выявлена зависимость интенсивности роста биоплёнок от концентрации гентамицина. Снижение концентрации гентамицина сопровождалось усилением роста биоплёнок и менее выраженным эффектом на сформированные биоплёнки. В целом мы не обнаружили существенных различий между исследованными штаммами *B. pertussis* основных сероваров по чувствительности к трипсину, лидазе, гентамицину и их комбинациям.

Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов о синергическом эффекте комбинаций ферментных препаратов с антибиотиками на микробные биоплёнки. Так, установлено, что комбинация трипсина и ДНКазы I в сочетании с меропенемом и амикацином вызывала разрушение двухвидовых биоплёнок (*S. aureus* – *P. aeruginosa*) в моделированных инфицированных ранах. При этом отмечено снижение минимальных концентраций антибиотиков, вызывавших разрушение биоплёнок, по меньшей мере в 2,5 раза [13]. Комбинация смеси ферментов (эндо-1,4-β-d-глюканаза, β-1,6-гексозаминидаза и неспецифическая эндонуклеаза РНК/ДНК) с антибиотиками разных классов оказала синергический эффект против биоплёнок *S. aureus*, *S. epidermidis* и *E. coli in vitro* [14]. При использовании протеиназы К в комбинации с антибиотиками наблюдался синергический эффект против всех изолятов *S. aureus*, образующих биоплёнки [15]. Также показано, что добавление ДНКазы усиливало действие антибиотиков на биоплёнки, образованные различными грамположительными и грамотрицательными бактериями, что приводило к уменьшению биомассы биоплёнок, изменению их архитектуры, морфологии и количества КОЕ [16].

Полученные результаты открывают перспективы для изучения влияния ферментных препаратов в сочетании с антибиотиками на рост биоплёнок *B. pertussis* у экспериментальных животных для разработки эффективных препаратов для этиотропного лечения коклюшной инфекции.

Заключение

1. Комбинации трипсина и лидазы с гентамицином оказывали синергический эффект на растущие и сформированные биоплёнки штаммов *B. pertussis*.
2. Добавление трипсина и лидазы позволило снизить МПК гентамицина для растущих биоплёнок с 2 мг/мл до 0,08 мг/мл.
3. Наиболее выраженным эффектом в отношении сформированных биоплёнок отличалась комбинация трипсина с гентамицином в концентрации 2 мкг/л, вызывавшая их полное разрушение и гибель планктонных клеток.
4. Эффект комбинации лидазы с гентамицином на сформированные биоплёнки был менее выраженным по сравнению с комбинацией трипсина с гентамицином.

Литература

1. Ломоносова А. В. Причины и последствия несвоевременной вакцинации против коклюшной инфекции в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020 Т. 97, №5. С. 492–502. DOI:https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-11.
2. Yeung K.H.T., Duclos P., Nelson E.A.S., et al. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2017;1(9):974–980. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30390-0.
3. Fullen A.R., Yount K.S., Dubey P., et al. Whoop! There it is: The surprising resurgence of pertussis. *PLoS Pathog.* 2020;16(7):1008625. doi:10.1371/journal.ppat.1008625.
4. Борисова О. Ю., Аleshkin A. В., Ивашинникова Г. А. и др. Чувствительность штаммов *Bordetella pertussis* к антибактериальным препаратам. *Детские инфекции.* 2013 № 2. С. 46–50.
5. Cattelan N., Dubey P., Arnal L., et al. *Bordetella* biofilms: a lifestyle leading to persistent infections. *Pathog. Dis.* 2016;74(1):ftv 108. DOI: 10.1093/femspd/ftv108.
6. Wille J., Coenye T. Biofilm dispersion: The key to biofilm eradication or opening Pandora's box? *Biofilm.* 2020;2:100027. DOI: 10.1016/j.biofilm.2020.100027.
7. МУК 4.2.2317-08 Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий. Москва. 2009.
8. Зайцев Е. М., Брицина М. В., Озерецковская М. Н. и др. Культивирование биопленок *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019 № 1. С. 49–53. DOI:10.36233/0372-9311-2019-1-49-53.
9. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград. 1962.
10. Liu H., Chen H., Sun Y., et al. Characterization of the mechanism and impact of staphylokinase on the formation of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* polymicrobial biofilms. *J. Med. Microbiol.* 2019;68(3):355–367. doi:10.1099/jmm.0.000914.
11. Manoharan A., Das T., Whiteley G.S., et al. The effect of N-acetylcysteine in a combined antibiofilm treatment against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020;75(7):1787–1798. doi: 10.1093/jac/dkaa093.
12. Fleming D., Rumbaugh K. The Consequences of Biofilm Dispersal on the Host. *Sci Rep.* 2018;8(1):10738. doi: 10.1038/s41598-018-29121-2.
13. Pirlar R.F., Emanini M., Beigverdi R., et al. Combinatorial effects of antibiotics and enzymes against dual-species *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the wound-like medium. *PLoS One.* 2020;15(6):0235093. doi: 10.1371/journal.pone.0235093.
14. Poilvache H., Ruiz-Sorribas A., Cornu O., et al. In Vitro Study of the Synergistic Effect of an Enzyme Cocktail and Antibiotics against Biofilms in a Prosthetic Joint Infection Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2021;65(4):01699–20. doi: 10.1128/AAC.01699-20.
15. Shukla S.K., Rao T.S. *Staphylococcus aureus* biofilm removal by targeting biofilm-associated extracellular proteins. *Indian J. Med. Res.* 2017;146 (Supplement):S1–S8. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_410_15/.
16. Tetz G.V., Artemenko N.A., Tetz V.V. Effect of DNase and antibiotics on biofilm characteristics. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2009;53(3):1204–1209. doi:10.1128/AAC.00471-08.

References

1. Lomonosova AV. Causes and consequences of delayed vaccination against pertussis infection in the Russian Federation. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2020;97(5):492–502 (In Russ). DOI:https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-11.
2. Yeung K.H.T., Duclos P., Nelson E.A.S., et al. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2017;1(9):974–980. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30390-0.
3. Fullen A.R., Yount K.S., Dubey P., et al. Whoop! There it is: The surprising resurgence of pertussis. *PLoS Pathog.* 2020;16(7):1008625. doi:10.1371/journal.ppat.1008625.
4. Borisova OY, Aleshkin AV, Ivashinnikova GA, et al. Sensitivity of *Bordetella pertussis* strains to antibacterial drugs. *Childhood infections.* 2013;2:46–50 (In Russ).
5. Cattelan N, Dubey P, Arnal L et al. *Bordetella* biofilms: a lifestyle leading to persistent infections. *Pathog. Dis.* 2016;74(1): ftv 108. DOI: 10.1093/femspd/ftv108
6. Wille J., Coenye T. Biofilm dispersion: The key to biofilm eradication or opening Pandora's box? *Biofilm.* 2020;2:100027. DOI: 10.1016/j.biofilm.2020.100027.
7. МУК 4.2.2317-08 Selection, verification and storage of production strains of pertussis, parapertussis and bronchisepticose bacteria. Moscow. 2009 (In Russ).
8. Zaitsev EM, Britsina MV, Ozeretskoykaya MN, et al. Cultivation of *Bordetella pertussis* biofilms on abiotic substrate. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2019;(1):49–53 (In Russ). DOI:10.36233/0372-9311-2019-1-49-53.
9. Ashmarin IP, Vorobyev AA. Statistical methods in microbiological research. Leningrad. 1962 (In Russ).
10. Liu H., Chen H., Sun Y., et al. Characterization of the mechanism and impact of staphylokinase on the formation of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* polymicrobial biofilms. *J. Med. Microbiol.* 2019;68(3):355–367. doi:10.1099/jmm.0.000914.
11. Manoharan A., Das T., Whiteley G.S., et al. The effect of N-acetylcysteine in a combined antibiofilm treatment against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020;75(7):1787–1798. doi: 10.1093/jac/dkaa093.
12. Fleming D., Rumbaugh K. The Consequences of Biofilm Dispersal on the Host. *Sci Rep.* 2018;8(1):10738. doi: 10.1038/s41598-018-29121-2.
13. Pirlar R.F., Emanini M., Beigverdi R., et al. Combinatorial effects of antibiotics and enzymes against dual-species *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the wound-like medium. *PLoS One.* 2020;15(6):0235093. doi: 10.1371/journal.pone.0235093.
14. Poilvache H., Ruiz-Sorribas A., Cornu O., et al. In Vitro Study of the Synergistic Effect of an Enzyme Cocktail and Antibiotics against Biofilms in a Prosthetic Joint Infection Model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2021;65(4):01699–20. doi: 10.1128/AAC.01699-20.
15. Shukla S.K., Rao T.S. *Staphylococcus aureus* biofilm removal by targeting biofilm-associated extracellular proteins. *Indian J. Med. Res.* 2017;146 (Supplement):S1–S8. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_410_15/.
16. Tetz G.V., Artemenko N.A., Tetz V.V. Effect of DNase and antibiotics on biofilm characteristics. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2009;53(3):1204–1209. doi:10.1128/AAC.00471-08.

Об авторах

- Евгений Михайлович Зайцев – д. м. н., заведующий лабораторией иммуномодуляторов, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, pertussis@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-4813-9074.
- Марина Васильевна Брицина – ведущий научный сотрудник, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, britsinamarina@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-3044-0790.
- Мария Николаевна Озерецковская – ведущий научный сотрудник, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, manja33@yandex.ru. ORCID ID 0000-0001-9809-4217.
- Ирина Глебовна Бажанова – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, ibajanowa@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-9072-2538.

Поступила: 28.04.2022. Принята к печати: 14.09.2022.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Evgeny M. Zaytsev – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Immunomodulators, Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, lab.immunomod@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-4813-9074.
- Marina V. Britsina – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, britsinamarina@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-3044-0790.
- Maria N. Ozertskovskaya – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, manja33@yandex.ru. ORCID ID 0000-0001-9809-4217.
- Irina G. Bazhanova – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, ibajanowa@yandex.ru. ORCID ID 0000-0002-9072-2538.

Received: 28.04.2022. Accepted: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

Позиция Экспертов Союза педиатров России в отношении ухудшения глобальной ситуации с вирусом полиомиелита

Сентябрь 2022

Л. С. Намазова-Баранова, А. А. Баранов, Н. И. Брико, О. Е. Иванова, Р. В. Полибин, А. Ю. Ртищев, В. Ф. Учайкин, М. В. Федосеенко, И. В. Фельдблюм, В. П. Чуланов, А. К. Шакарян, О. В. Шамшева

Союз педиатров России

Ассоциация педиатров-инфекционистов

Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций (НАСКИ)

Национальная референс-лаборатория по полиомиелиту Российской Федерации

С тревогой отмечая ситуацию растущей угрозы распространения полиомиелита в мире и на территории Российской Федерации, эксперты Союза педиатров России, Ассоциации педиатров-инфекционистов и Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций (НАСКИ) настаивают на чрезвычайной важности полноценной и своевременной вакцинопрофилактики полиомиелита. Согласно позиции ВОЗ, в настоящее время следует предпринять все возможные усилия для поддержания высокого уровня популяционного иммунитета против этой инвалидизирующей инфекции. Приостановка и многочисленные нарушения процесса плановой иммунизации в условиях пандемии COVID-19 могут привести к увеличению числа восприимчивых к инфекции лиц и угрожают развитием вспышек и даже эпидемий полиомиелита.

Полиомиелит – тяжелая, смертельно опасная инфекция, заразиться которой может невакцинированный человек любого возраста, но наиболее тяжелые формы болезни развиваются у детей младше 5 лет. По статистике, примерно один из 100–200 случаев болезни приводит к необратимому параличу, 5–10% парализованных умирают.

Применение эффективных вакцин на протяжении нескольких десятилетий позволило достичь в мире высочайшего уровня контроля над инфекцией, и даже полной элиминации вируса на отдельных континентах при соблюдении максимально высокого уровня иммунизации населения.

В 1988 г., когда была запущена Глобальная инициатива по ликвидации полиомиелита (GPEI/ГИЛП), вирус циркулировал более чем в 125 странах мира и был причиной около 1000 случаев паралича в день. Благодаря усилиям глобальной иммунизации, которая охватила почти 3 миллиарда детей,

заболеваемость полиомиелитом снизилась более, чем на 99%. К сегодняшнему дню успешная ликвидация болезни, вызванной дикими полиовирусами, произошла в большинстве стран мира, а пять регионов ВОЗ были сертифицированы как свободные от полиомиелита: Американский (в 1994 г.), Западно-Тихоокеанский (в 2000 г.), Европейский (в 2002 г.), Юго-Восточной Азии (в 2014 г.), Африканский (в 2020 г.). Более того, ликвидированы два из трех типов диких полиовирусов (типы 2 и 3). Вместе с тем, эндемическая передача дикого полиовируса типа 1 всё еще продолжается в некоторых районах Афганистана и Пакистана, и создает предпосылки к глобальному возрождению болезни. Так, если в 2021 г. было зарегистрировано только 6 случаев, то за первые восемь месяцев 2022 г. инфекция, вызванная диким полиовирусом типа 1, была диагностирована у 21 пациента. Причем за последние 12 месяцев заболевшие были выявлены не только на территории эндемичных стран, но и в Малави и Мозамбике. Все дети мира остаются подвержены риску заболевания полиомиелитом, пока вирус не будет повсеместно искоренен. До тех пор наилучший способ для стран минимизировать риск и последствия заражения полиомиелитом – это поддерживать высокий уровень рутинной иммунизации и усиленного эпиднадзора для быстрого выявления заболевания и принятия адекватных ответных мер. Иными словами, стратегия искоренения полиомиелита основана на предотвращении заболевания путем иммунизации каждого ребенка до тех пор, пока передача вирусов не прекратится, и мир не станет свободным от этой инфекции.

При применении ОПВ с недостаточным охватом (менее 95%) формируются цепочки передачи вакцинных полиовирусов между непривитым контингентом с формированием крайне опасных

мутантных штаммов, способных вызывать паралитическое заболевание. В частности, к таким мутантам относятся циркулирующие полиовирусы вакцинного происхождения (цПВВП). Особую тревогу вызывает тот факт, что в некоторых регионах мира продолжается выявление случаев инфекции, вызванной цПВВП. Сам факт появления цПВВП – важный объективный индикатор недостаточного уровня привитости населения. Население, которое полностью иммунизировано, защищено от изменений и распространения цПВВП. В связи с этим, крайне настораживает то, что за последние 12 месяцев из разных стран мира активно поступает информация о регистрации случаев паралитического полиомиелита, вызванного цПВВП, причем всех трех типов полиовирусов. Глобально в 2022 г. (данные ВОЗ на 30 августа 2022 г.) было зарегистрировано 261 случай паралитического полиомиелита, вызванного цПВВП типа 2, 10 случаев, вызванных цПВВП типа 1, и один случай цПВВП типа 3.

В Таджикистане с 2020 г. цПВВП второго типа был выявлен в общей сложности у 35 детей с клинической картиной острого вялого паралича и у 22 детей без каких-либо симптомов. В ответ на эту вспышку было проведено три раунда дополнительной иммунизации, охвачено 99% целевой группы детей в возрасте младше 6 лет. В 2021 г. на территории Украины, на фоне стабильно низкого уровня охвата вакцинацией, подтверждена циркуляция цПВВП в двух областях: Ровненской (северо-западе страны) и Закарпатской – на юго-западе. Паралитический полиомиелит, вызванный цПВВП типа 2, был диагностирован в октябре 2021 г. у непривитой девочки 17 месяцев и в январе 2022 г. – у непривитого двухлетнего мальчика. Также цПВВП2 были выделены от 18 здоровых детей.

В марте 2022 г. паралитический полиомиелит, вызванный цПВВП типа 3, был подтвержден у непривитой девочки трех лет 9 месяцев в Иерусалиме (Израиль). Заболевание, вызванное цПВВП типа 2, было подтверждено в июле 2022 года у непривитого взрослого из американского штата Нью-Йорк, в котором отмечается самый низкий уровень охвата прививками. При этом штамм вируса был генетически схож с двумя изолятами полиовирусов, выделенных из проб окружающей среды в июне 2022 г. в Нью-Йорке и в Лондоне. В этой связи Объединенный комитет по вакцинации и иммунизации Великобритании срочно рекомендовал проведение бустеризации детям в возрасте от 1 года до 9 лет во всех районах Лондона с использованием инактивированной полиовирусной вакцины (ИПВ). Ожидается, что эта мера обеспечит высокий уровень защиты и поможет снизить риск дальнейшего распространения полиовирусов.

В марте 2022 г. Европейское региональное бюро ВОЗ (ЕРБ ВОЗ) призвало все страны Европейского региона принять общественным здравоохранением меры для профилактики, выявления и оперативно реагирования на сигналы о вспышках болезней, которые можно предотвратить с помощью вакцинации, усилить эпиднадзор за полиовирусом, в том

числе активный поиск незарегистрированных случаев острого вялого паралича (ОВП) и активное выявление случаев в местных медицинских учреждениях, а также расширение отбора проб у лиц, контактировавших со всеми больными с ОВП; усилить дополнительный надзор за полиомиелитом, в частности надзор за окружающей средой для выявления любой скрытой передачи вируса. Также ЕРБ ВОЗ призвало страны Европейского региона пересмотреть и обновить национальные планы готовности и реагирования на случаи полиомиелита; пересмотреть охват иммунизацией на субнациональном уровне и среди групп высокого риска и принять меры для его повышения при выявлении такой необходимости. ЕРБ ВОЗ призвало к обеспечению полного охвата беженцев, рассмотрению возможности вакцинации против полиомиелита с использованием инактивированной полиовакцины (ИПВ) прибывающих детей-беженцев в возрасте до 6 лет, которые в прошлом пропустили какие-либо плановые прививки.

Ситуация по полиомиелиту в Российской Федерации в настоящее время оценивается как благополучная, однако сохраняющиеся высокие риски появления полиомиелита на территории сопредельных государств (Таджикистан, Украина и др.) вызывает серьезные опасения в связи с растущей возможностью завоза этой инфекции на территорию страны.

Эксперты подчеркивают важность поддержания высокого охвата вакцинацией для профилактики паралитического полиомиелита у детей в соответствии со всеми регламентирующими документами и правилами, определяющими борьбу с вирусом полиомиелита.

Вакцинация против полиомиелита в России должна проводиться в соответствии с рекомендованным графиком Национального календаря профилактических прививок: в 3 месяца, 4,5 и 6 месяцев жизни с последующей ревакцинацией в 18 и 20 месяцев, а также в 6 лет. Причем для выполнения первичной вакцинации и первой ревакцинации у всех детей должна применяться инактивированная полиовакцина (ИПВ), формирующая иммунную защиту ко всем трем типам вируса полиомиелита.

Очень важно, чтобы врач любой специальности был внимателен к процессу вакцинации своего пациента. Так, необходимо вести постоянный контроль вакцинального анамнеза у пациента на приеме любого специалиста с последующим безотлагательным проведением догоняющей иммунизации, если это необходимо. Рекомендовано пересмотреть все случаи медицинских отводов и отказов от профилактических прививок и настоятельно рекомендовать скорейшее проведение вакцинации.

Следует помнить, что наибольшему риску заболевания полиомиелитом подвержены дети, получившие менее 3-х прививок или привитые с нарушением схемы иммунизации, рекомендованной Национальным календарем профилактических прививок.

Стоит также напомнить, что отсрочка при проведении очередной плановой вакцинации в детском

NASC Information

возрасте приводит к нарушению рекомендованной схемы, следовательно, и к снижению её эффективности. Вакцинация должна быть возобновлена и продолжена введением оставшегося количества рекомендованных доз вакцины.

Необходимым условием успешной вакцинопрофилактики являются активная информационно-просветительская деятельность как в обществе, так и среди медицинских специалистов по вопросам угрожаемой распространяющейся инфекции и жизненно важном проведении иммунизации.

Серьёзные беспокойство вызывают всё ещё существующие многочисленные отказы родителей от вакцинации против полиомиелита, особенно в некоторых регионах Северного Кавказа. Таким образом образуется популяция детей с повышенным риском формирования и циркуляции ЦПВВП, риском реализации заноса дикого полиовируса. В этой ситуации как никогда необходима четкая профессиональная позиция медицинских работников в отношении иммунизации, причём формирование этой позиции следует начинать в медицинских ВУЗах. Как никогда возрастает роль религиозных лидеров, педагогов образовательных организаций, которые вместе с медицинскими работниками должны взаимодействовать с родителями для обеспечения иммунизации детей.

Кроме того, в соответствии с нормативными документами, необходимо осуществлять мероприятия не только по организации вакцинопрофилактики, но по мониторингу за возбудителем в объектах окружающей среды и проведении подчищающих туровых вакцинаций в регионах или сообществах с высоким риском распространения полиомиелита. Первостепенное внимание должно уделяться детям, прибывшим из неблагополучных по полиомиелиту регионов (Таджикистан, Украина, беженцы из ДНР и ЛНР и др.). Следует помнить, что в соответствии с рекомендациями ЕРБ ВОЗ и в соответствии с Постановлением главного санитарного врача РФ детей, въехавших на территорию РФ с территориями ЛНР, ДНР и Украины, и проживающих в пунктах временного размещения, непривитых и не имеющих сведений о прививках, необходимо прививать против полиовируса с использованием ИПВ, а также против других вакцинопредотвратимых инфекций с использованием соответствующих вакцин.

Именно своевременная вакцинация в соответствии с Национальным календарем прививок и поддержание широкого охвата позволит установить иммунологический щит против грозной инфекции и обеспечит надежный контроль за распространением возбудителя.

Источники

1. Global Polio Eradication Initiative (GPEI): <https://polioeradication.org>
2. WHO. Poliomyelitis (polio): https://www.who.int/health-topics/poliomyelitis#tab=tab_1
3. GPEI. Circulating vaccine-derived poliovirus: <https://polioeradication.org/polio-today/polio-now/this-week/circulating-vaccine-derived-poliovirus/>
4. Пресс-релиз ЕРБ ВОЗ от 28 апреля 2022 г.: <https://www.who.int/europe/ru/news/item/28-04-2022-comprehensive-outbreak-response-successfully-stops-spread-of-polio-in-tajikistan>
5. Приказ Минздрава России от 6 декабря 2021 г. №1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок»
6. Письмо Минздрава России от 21.01.2022 №15-2/И/2-806 «О направлении методических рекомендаций по проведению профилактических прививок в соответствии с приказом Минздрава России от 6 декабря 2021 г. №1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок»
7. ЕРБ ВОЗ. Обеспечение беженцев услугами по иммунизации. Руководство для принимающих стран в условиях массового перемещения населения из Украины, Март 2022: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/352501>
8. Постановление Главного Государственного санитарного врача Российской Федерации от 05.04.2022 г. №11 «О проведении подчищающей иммунизации против полиомиелита в 2022 году»
9. ECDC. Update on the polio situation in the EU/EEA and the world, 16 Aug 2022: <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/update-polio-situation-eueea-and-world>
10. UKHSA. All children aged 1 to 9 in London to be offered a dose of polio vaccine, 10 August 2022: <https://www.gov.uk/government/news/all-children-aged-1-to-9-in-london-to-be-offered-a-dose-of-polio-vaccine>
11. Public Health Response to a Case of Paralytic Poliomyelitis in an Unvaccinated Person and Detection of Poliovirus in Wastewater — New York, June–August 2022. Weekly / August 19, 2022 / 71(33):1065–1068 <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/71/wr/mm7133a2.htm>
12. GPEI. Updated statement on report of polio detection in United States, 29 July 2022: <https://polioeradication.org/news-post/report-of-polio-detection-in-united-states/>
13. M. Hill, A.S. Bandyopadhyay, A.J. Pollard. Emergence of vaccine-derived poliovirus in high-income settings in the absence of oral polio vaccine use. The Lancet. Published: August 18, 2022. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01582-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01582-3)

Эксперты

- **Лейла Сеймуровна Намазова-Баранова** – руководитель НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦНП2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Минобрнауки России, заведующая кафедрой факультетской педиатрии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, главный внештатный детский специалист по профилактической медицине Минздрава России, Президент Союза педиатров России, председатель Независимого экспертного союза в области иммунопрофилактики (NITAG) РФ, паст-президент Европейской педиатрической ассоциации (EPA/UNEPISA), член бюро Исполкома Международной педиатрической Ассоциации (ИПА), академик РАН, д.м.н., профессор
- **Александр Александрович Баранов** – главный внештатный специалист педиатр Минздрава России, Почетный Президент Союза педиатров России, советник руководителя НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦНП2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАОУ «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России, академик РАН, д.м.н., профессор
- **Николай Иванович Брико** – директор Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана, заведующий кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины медико-профилактического факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, д.м.н., профессор
- **Ольга Евгеньевна Иванова** – ведущий научный сотрудник ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), профессор кафедры организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, руководитель референс-центра ВОЗ по полиовирусу и энтеровирусам, член Чрезвычайного комитета ММСП по полиовирусу (ВОЗ), д.м.н.
- **Роман Владимирович Полибин** – главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России, зам. директора по научной работе Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, к.м.н., доцент
- **Алексей Юрьевич Ртищев** – доцент кафедры инфекционных болезней у детей педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, главный внештатный специалист по инфекционным болезням у детей в ЦАО ДЗ г. Москвы, ведущий научный сотрудник отдела разработки научных подходов к иммунизации пациентов с отклонениями в состоянии здоровья и хроническими болезнями НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦНП2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Минобрнауки России, доцент кафедры факультетской педиатрии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, к.м.н.
- **Василий Федорович Учайкин** – Президент Ассоциации педиатров-инфекционистов, академик РАН, д.м.н., профессор
- **Марина Владиславовна Федосеева** – заведующая отделом разработки научных подходов к иммунизации пациентов с отклонениями в состоянии здоровья и хроническими болезнями, ведущий научный сотрудник НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦНП2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Минобрнауки России, доцент кафедры факультетской педиатрии педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, к.м.н.
- **Ирина Викторовна Фельдблюм** – заведующая кафедрой эпидемиологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, член-корр. РАН, профессор, д.м.н.
- **Владимир Петрович Чуланов** – главный внештатный специалист по инфекционным болезням Минздрава России, заместитель директора по научной работе и инновационному развитию ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр физиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, д.м.н., профессор
- **Армен Каренович Шакарян** – научный сотрудник клинического отдела ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), председатель комиссии по диагностике полиомиелита и острых вялых парезов Роспотребнадзора РФ, эксперт ВОЗ по полиомиелиту, к.м.н.
- **Ольга Васильевна Шамшьева** – генеральный директор Ассоциации педиатров-инфекционистов, заведующая кафедрой инфекционных болезней у детей педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России, д.м.н., профессор.

Совершенствование эпидемиологического надзора за корью, краснухой и эпидемическим паротитом в Российской Федерации

В соответствии с планом работы Роспотребнадзора на 2022 г. 17–18 ноября в г. Нижний Новгород и 29–30 ноября 2022 г. в г. Томске проведены региональные совещания в очном формате «Совершенствование эпидемиологического надзора за корью, краснухой и эпидемическим паротитом в Российской Федерации», в которых приняли участие специалисты Роспотребнадзора, Национального научно-методического центра по надзору за корью и краснухой (ННМЦ), ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, руководители и специалисты 10 региональных центров по надзору за корью и краснухой (Московский, Санкт-Петербургский, Ростовский, Нижегородский, Башкортостанский, Пермский, Красноярский, Новосибирский, Амурский, Приморский), специалисты Управлений Роспотребнадзора и центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, представители органов исполнительной власти в субъектах Российской Федерации в сфере охраны здоровья. В режиме видеоконференцсвязи в совещаниях принимали участие эпидемиологи и медицинские работники Донецкой, Луганской, Запорожской областей. Всего в совещании участвовали 218 специалистов, включая специалистов учреждений здравоохранения из 40 субъектов Российской Федерации.

В ходе совещаний рассматривались актуальные вопросы совершенствования эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом в рамках реализации Программы «Элиминации кори и краснухи, достижение спорадического уровня заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации (2021–2025 гг.)»; обсуждены результаты деятельности лабораторной сети по кори и краснухе в 2021–2022 гг. и данные об эпидемической ситуации по кори, краснухе, эпидемическому паротиту в регионах, охвату прививками декретированных возрастных и профессиональных групп; прошел обмен опытом по организации профилактической работы во время и после пандемии новой коронавирусной инфекции.

На совещании отмечено неблагополучие эпидемической ситуации по кори и краснухе в мире

и европейском регионе ВОЗ. Сохраняющийся риск завоза кори в РФ с территорий других государств, подтверждает анализ заболеваемости в РФ за 10 месяцев 2022 г.: из 34 случаев кори 14 случаев были завозными (13 случаев из Республики Таджикистан и один из Республики Азербайджан). В этих условиях чрезвычайно важно достижение и поддержание высокого (более 95%) уровня охвата прививками населения страны против кори, краснухи и эпидемического паротита, а также сохранять настороженность в отношении этих инфекций.

Проводимые в России мероприятия по подтищающей иммунизации против кори в 2019–2020 гг. позволили укрепить иммунную прослойку населения против данных инфекций. Анализ охвата прививками декретированных групп населения показал, что в 2021 г. был достигнут высокий уровень иммунизации против кори взрослого населения в возрасте 18–35 лет практически на всех территориях страны. При этом показатель своевременности охвата прививками детей к 24 месяцам жизни против кори на территории двух субъектов Российской Федерации был ниже 95%. В девяти регионах не достигнут регламентированный уровень охвата второй прививкой против кори детей в 6 лет.

Руководитель лаборатории профилактики вирусных инфекций отметила в своем сообщении, что на долю Республики Дагестан приходится 82,3% заболеваемости эпидемическим паротитом в нашей стране (372 из 452 зарегистрированных случаев эпидпаротита) и такая ситуация сохраняется в течение последних пяти лет. Руководитель лаборатории прикладной иммунохимии дала характеристику циркулирующим в России генотипам вируса кори и эпидемического паротита.

Руководитель отдела эпидемиологии напомнила индикаторы качества эпидемиологического надзора за корью и краснухой и обратила внимание участников совещания на снижение (менее регламентируемых 2 на 100 тыс. населения) показателя обследования пациентов с лихорадкой и пятнисто-папулезной сыпью в 2021 г. и 10 месяцев 2022 г. в целом по стране и в отдельных субъектах.

По итогам совещаний были приняты резолюции.



ОМОНТУРДИ МИРТАЗАЕВ

В возрасте 74 лет скончался Омонтурди Миртазаев, профессор Ташкентской медицинской академии, доктор медицинских наук, академик медико-технических наук Российской Федерации,

Омонтурди Миртазаев родился в 1948 г. в Дехканабадском районе Кашкадарьинской области Узбекистана. В 1971 г. с отличием окончил Ташкентский государственный медицинский институт, в стенах которого начался его путь ученого со стажера-исследователя на кафедры эпидемиологии, затем аспирантом на этой же кафедры, где успешно защитив кандидатскую диссертацию, работал ассистентом и старшим преподавателем.

В 1993 г. Омонтурди Миртазаев под руководством академиков В. И. Покровского и Б. Л. Черкасского О успешно защитил докторскую диссертацию на тему: «Современные особенности течения эпидемического процесса сальмонеллеза и пути совершенствования эпидемиологического надзора этим заболеванием в Среднеазиатском регионе».

В 1993 г. Омонтурди Миртазаеву была присвоена ученая степень доктора медицинских наук, в 1998 г. – ученое звание профессора, в 2008 г. – ученое звание академика медико-технических наук Российской Федерации. В 2018 г. он был награжден знаком «Отличник здравоохранения».

В 1993–2010 гг. являлся заведующим кафедры эпидемиологии Второго Ташкентского государственного медицинского института (в настоящее время – Ташкентская медицинская академия – ТМА), с 2011 г. – профессор этой кафедры. Одновременно работал главным эпидемиологом МЗ РУз (1995–2002 гг.), директором Института здравоохранения (2001–2005 гг.), деканом факультета медико-профилактического факультета ТМА (2005–2010).

Омонтурди Миртазаев много сил отдал подготовке медицинских кадров, под его руководством защищено 4 докторских, 16 кандидатских и более 30 магистерских диссертаций, опубликовано 8 учебников, 4 монографии, более 600 научных работ, 18 учебных пособий.

Впервые в Узбекистане им были опубликованы на узбекском языке: «Учебное пособие для практических занятий по эпидемиологии» (2003 г.), «Военная эпидемиология» (2013 г.), «Эпидемиология» (2016 г.), «Эпидемиология» (2017 г. для студентов медицинских вузов), Изданы учебники «Эпидемиология» (2017 г.) 2020 г. для студентов медико-профилактического факультета), «Эпидемиология» (2022 г. для студентов лечебного и медико-педагогического факультетов).

Омонтурди Миртазаев являлся координатором многих международных проектов: по сотрудничеству между Минздравом Узбекистана и ЮНИСЕФ; наставничеством в международном учебном курсе по прикладной эпидемиологии, организованным с ТМА и CDC, США; между Управлением санитарно-эпидемиологической стабильности и общественного здравоохранения Республики Узбекистан и CDC США – «Улучшение медицинского обслуживания на границе в Казахстане, Кыргызстане, Таджикистане и Узбекистане в ответ на эпидемию COVID-19 и другие инфекционные заболевания» совместно с Международной организацией по миграции (IOM) и ВОЗ, Корейским университетом и Корейской организацией международного сотрудничества (KOICA).

Ученый награжден благодарственными письмами и почетными грамотами международных и узбекских организаций (Управление санитарно-эпидемиологической стабильности и общественного здравоохранения, ЮНИСЕФ, CDC, IOM, KOICA).

Впервые в республике им был создан Институт здоровья и 14 филиалов этого института. Работал членом экспертного совета ВАК и экспертом по заверению дипломов медицинских работников Республики Узбекистан. С 2015 г. был главным куратором Ташкентской медицинской академии.

Мы уверены, что жизненный путь Омонтурди Миртазаева, замечательного человека, ученого, педагога, самоотверженно трудившегося на благо своего народа, всегда будет примером для будущих поколений.

Главный редактор, академик Н. И. Брико, и редакция журнала выражают глубочайшее соболезнование родным, друзьям и коллегам Омонтурди Миртазаева.

ВЕЧНАЯ ПАМЯТЬ