

# Коронавирусы

## Введение

Коронавирусы – большое семейство вирусов, способных вызывать заболевания как у человека, так и у многих млекопитающих, таких как свиньи, крупный рогатый скот, кошки, собаки, куницы, верблюды, летучие мыши, землеройки, ежи, киты, различные виды птиц и др. На поверхности вирусной частицы много регулярно расположенных выступов – белков, и частица вируса под микроскопом похожа на солнечную корону, отсюда и название «коронавирус». С 2011 года это семейство подразделяют на два подсемейства: Ортокоронавирина (вирусы млекопитающих и птиц) и Летовирина (коронавирусы амфибий).

В настоящее время известны только 7 коронавирусов, которые заражают людей. Четыре из них – бета-коронавирусы OC43, HKU1, и альфа-коронавирусы NL63 и 229E, как правило, вызывают симптомы обычной простуды, но иногда являются причиной тяжелых вирусных пневмоний. Три других – коронавирус Тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС, SARS), коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома (БВРС, MERS) и новый коронавирус, открытый в 2020 году и названный SARS-CoV-2, вызывают как легкие, так и серьезные заболевания дыхательных путей, которые могут закончиться летальным исходом.

Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) или «атипичная пневмония» – вирусное инфекционное заболевание, характеризующееся поражением бронхолегочной системы и тяжелым течением, вызывается коронавирусом, который с февраля 2002 года называется SARS-CoV-1. Путей передачи заболевания от человека к человеку три: воздушно-капельный, контактный, фекально-оральный. Заражение более вероятно в условиях тесного бытового (внутрисемейного) общения. Случаи заболевания были зарегистрированы с ноября 2002 по август 2003 года. Эпидемия была прекращена в 2003 году благодаря эффективным всеобъемлющим мерам, предпринятым органами здравоохранения многих стран, и ни одного случая заболевания ТОРС после этого зарегистрировано не было, кроме единичных лабораторных случаев. Всего во время эпидемии заболело 8098 человек, число умерших составило 861. Основным резервуаром в природных очагах являются некоторые виды летучих мышей, от которых вирус передался пальмовым цветкам, виверрам (*Paguma larvata*), енотовидным собакам (*Nyctereutes procyonoides*), а потом - людям. Летальность для человека – около 10%.

Ближневосточный респираторный синдром (БВРС) – вирусное респираторное заболевание, вызываемое коронавирусом MERS-CoV, который впервые был выявлен в Саудовской Аравии в 2012 году. Коронавирус MERS-CoV передается человеку от одногорбых верблюдов и согласно некоторым данным распространен среди популяций одногорбых верблюдов на Ближнем Востоке, в Африке и Юго-Западной Азии. Вирус выявлен у верблюдов в следующих странах: Буркина-Фасо, Египет, Иордания, Иран, Испания (Канарские острова), Катар, Кения, Королевство Саудовская Аравия, Кувейт, Мали, Марокко, Нигерия, Объединенные Арабские Эмираты, Оман, Пакистан, Сомали, Судан, Тунис и Эфиопия. Зарегистрированы лишь единичные случаи передачи вируса от человека к человеку, главным образом внутри семьи или при оказании помощи больному в больнице, за исключением большой внутрибольничной вспышки в Южной Корее в том же году. Начиная с 2012 года случаи БВРС были выявлены в 27 странах, при этом примерно 80 % случаев среди людей были зарегистрированы в Королевстве Саудовская Аравия. В настоящее время случаи продолжают регистрироваться среди жителей, имеющих плотный

контакт с верблюдами, на январь 2020 года число больных во всех странах достигло 2,5 тысяч человек, число умерших превысило 700 человек. Другие случаи связаны с заболеваниями людей, которые были инфицированы на Ближнем Востоке и выехали оттуда в другие районы. Вспышки за пределами Ближнего Востока регистрируются редко. Летальность в целом – около 35%.

В декабре 2019 года из Китая начали поступать сообщения о случаях респираторного заболевания неизвестной этиологии среди жителей города Ухань, административный центр провинции Хубэй. Всемирная Организация здравоохранения (ВОЗ) для обозначения агента, вызвавшего вспышку заболевания, поначалу использовала термин «новый коронавирус 2019». Впоследствии было показано, что новый коронавирус является бета-коронавирусом и родственником коронавируса SARS (гомология около 80%), поэтому научная группа по этому семейству Международного комитета по Таксономии Вирусов 11 февраля 2020 года присвоила этому вирусу постоянное имя – SARS-CoV-2 (Guo, Y.R., Cao, Q.D., Hong, Z.S., Tan, Y.Y., Chen, S.D., Jin, H.J., Tan, K.S., Wang, D.Y., Yan, Y., 2020. [The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 \(COVID-19\) outbreak—an update on the status. Military Medical Research 7 \(1\), 1–10.](#)). Официальное название болезни, вызванной SARS-CoV-2, было обозначено ВОЗ как коронавирусная болезнь COVID-19 (CoronaVirus Disease) (Wang et al., 2020a; Wu et al., 2020a; Wu et al., 2020b; Zhou и др., 2020b; Zhou et al., 2020a). Анализ его генома выявил тесную связь вируса SARS-CoV-2 с двумя коронавирусами летучих мышей и одним из коронавирусов панголина. Первичные эпидемиологические исследования связали появление нового коронавируса с оптовым рынком Huanan Seafood и указали на его зоонозное происхождение (Novel, C.P.E.R.E., 2020. [The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases \(COVID-19\) in China. Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi 41 \(2\), 145.](#); Perlman, 2020; European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2020. [Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 \(SARS-CoV-2\): Increased Transmission Beyond China—Fourth Update \(PDF, 14th February\)](#); World Health Organization (WHO), 2020a. [WHO Director-General’s Opening Remarks at the Media Briefing on COVID-19—11 March 2020. \(11 March\)](#)). Заболевание стремительно распространилось по миру и уже через 6 месяцев регистрировалось в более чем 212 странах, число заболевших на 13 декабря 2020 года превысило 71 миллион человек, а умерших – более 1,6 млн. Эволюционные генетические исследования показали, что переход вируса от животных (возможно, летучих мышей) к людям, произошел в ноябре или в начале декабря 2019 года. Летальность – около 4% (для разных стран колеблется в пределах 1-15%).

#### Сравнение эпидемиологических и биологических свойств вирусов SARS, MERS и SARS-CoV-2

Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med.* 2020;28(2):174-184

	<b>SARS-CoV-1</b>	<b>MERS</b>	<b>SARS-CoV-2</b>
Возможный природный резервуар	Рукокрылые	Рукокрылые	Рукокрылые
Возможный промежуточный хозяин	Пальмовая цвететта	Однорбый верблюд	Рукокрылые, цвететты, панголины, норки, бамбуковые крысы
Первоначальный источник распространения	Провинция Гуандонг, Китай	Аравийский полуостров	Провинция Хубэй, Китай

Клиническая эпидемиология:			
-Количество заболевших на 13.12.2020	8098	2499	Более 71 миллиона человек
-Количество погибших	744	861	Более 1,6 млн. человек
-Летальность	10%	35%	3.5%
-Количество стран	29	27	187
-Срок инфицирования первых 1000 человек	130 сут	903 сут	48 сут
-Инкубационный период	4.6 (2-7) сут	5.2 (1.9-14.7) сут	5.1 (2-14) сут
-Коэффициент контагиозности $R_0$	2-5	<1	2.68 (2-4)
-Распространение	Глобальное	Региональное	Глобальное
-Передача	От животных человеку, от человека к человеку		
	Распространился от летучих мышей, на виверровых, затем на человека. Между людьми передавался в основном через близкий контакт. Есть данные о распространении фекально-оральным путем.	Заражение от прикосновения к зараженным верблюдам или через потребление их молока или мяса. Ограниченная передача между людьми через тесный контакт	Заражение через контакт с неизвестным животным. От человека к человеку передача происходит через близкий контакт.
Рецептор	Человеческий ангиотензин-превращающий фермент II типа (ACE2)	Человеческая дипептидил пептидаза 4 (DPP4 или CD26)	Человеческий ангиотензин-превращающий фермент II типа (ACE2)
Присутствие рецептора на тканях	Артериальный и венозный эндотелий; артериальная гладкая мышца; тонкая кишка; эпителий дыхательных путей; альвеолярные моноциты и макрофаги	Эпителий дыхательных путей; почек; тонкая кишка; печень и простата; лейкоциты	Артериальный и венозный эндотелий; артериальная гладкая мышца; тонкая кишка; эпителий дыхательных путей; альвеолярные моноциты и макрофаги
Клетки органов, наиболее восприимчивых к заражению	Дыхательных путей; почек; кишечника; печени	Дыхательных путей; кишечного тракта; мочеполовых путей; печени, почек, нейроны; моноциты; Т-лимфоциты, а также гистиоцитарные клеточные линии	Дыхательных путей; почек; печени, пищевода, мочевого пузыря, подвздошной кишки, сердца, ЦНС
Эффективность вирусной репликации	Высокая	Высокая	Высокая

## Классификация

Семейство *Coronaviridae* входит в класс *Pisoniviricetes*, отряд *Nidovirales* и состоит из 2 подсемейств – *Letovirinae* (1 род *Alphaletovirus* – 1 вид *Microhyala letovirus 1*) и *Orthocoronavirinae* (4 рода – *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus*, *Gammacoronavirus*). В род альфа-коронавирусов входят 19 видов, в род бета-коронавирусов – 14 видов, в род дельта-коронавирусов – 7 видов, в род гамма-коронавирусов – 5 видов (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>).

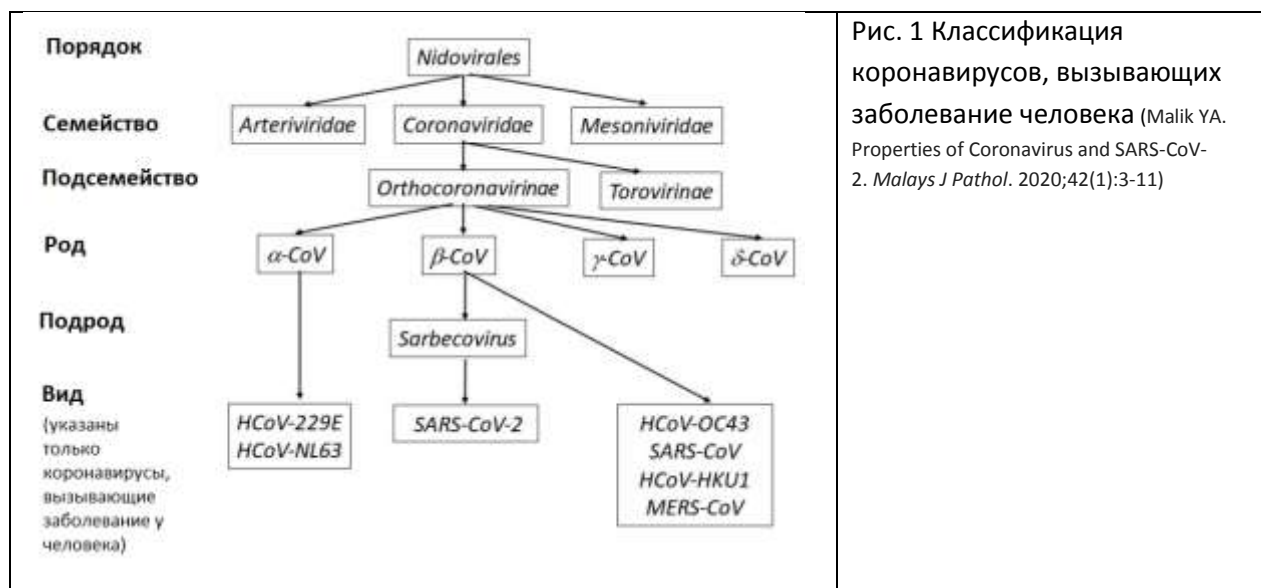


Рис. 1 Классификация коронавирусов, вызывающих заболевание человека (Malik YA. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays J Pathol.* 2020;42(1):3-11)

Альфа- и бета-коронавирусы способны инфицировать млекопитающих, тогда как два других рода – гамма- и дельта-коронавирусы могут инфицировать птиц и млекопитающих. К настоящему времени обнаружено, что семь видов коронавирусов заражают людей и вызывают респираторные заболевания.

Четыре из семи – это широко распространенные в мире альфа-коронавирусы человека HCoV-229E, HCoV-NL63, и бета-коронавирусы HKU1 и HCoV-OC43. Коронавирусы HCoV-229E и HCoV-NL63 входят в род альфа-коронавирусов, а коронавирусы HCoV-HKU1 и betacoronavirus 1 (HCoV-OC43) входят в род бета-коронавирусов. Все эти вирусы обычно вызывают у человека заболевание верхних дыхательных путей, однако иногда могут вызывать более серьезные заболевания у пожилых людей или людей с ослабленным иммунитетом.

Оставшиеся 3 вируса: вирусы SARS-CoV-1 (*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*), MERS-CoV (*Middle East respiratory syndrome-related coronavirus*) и SARS-CoV-2 в соответствии с современной классификацией относятся к подсемейству *Orthocoronavirinae*. Вирус SARS относится к подроду *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus*. Вирус MERS относится к подроду *Merbecovirus* рода *Betacoronavirus*. Геном вируса SARS-CoV-2 более чем на 80% схож с геномом вируса SARS-CoV-1, и Международный Комитет по Таксономии Вирусов (ICTV) отнес его к роду *Betacoronavirus*.

Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) одобрил следующее определение вида вируса в 1991 году: «Вид вируса является политетическим классом вирусов, которые составляют единую реплицирующуюся линию и занимают особую экологическую нишу».

Термин «политетизм» был введен Д. Кларком в его монографии «Аналитическая археология». Согласно Л.С. Клейну: «Политетизм, Политетичность, Политетический – такой характер организованности, при котором нет жесткой сопряженности характеристик, привязанности их к одному набору характеристик и к одной группе объектов. Характеристики не только выпадают из набора у членов данной группы, но и появляются, пусть и менее густо, в иных сочетаниях, вне данного набора и данной группы, в неорганизованном периферийном материале или даже у членов смежных групп. Хотя бы в некоторых, а то и у многих объектов представлена лишь та или иная часть некоторого (характерного для данной группы) набора характеристик, и не каждая характеристика представлена у всех объектов. По определению, политетическая организованность не может иметь сплошного распределения характеристик; ей присуще только ажурное распределение» [Клейн, 1991а].

Исследовательская группа коронавирусов ICTV предложила видовой критерий, основанный на сходстве аминокислотных последовательностей фрагментов в семи сцепленных доменах неструктурной части генома коронавирусов (de Groot et al., 2013). Открытие новых коронавирусов может скорректировать настоящую классификацию этого семейства.

### **Структурно-функциональные свойства коронавирусов**

Коронавирусы – оболочечные вирусы с одноцепочечным плюс-РНК-геномом.

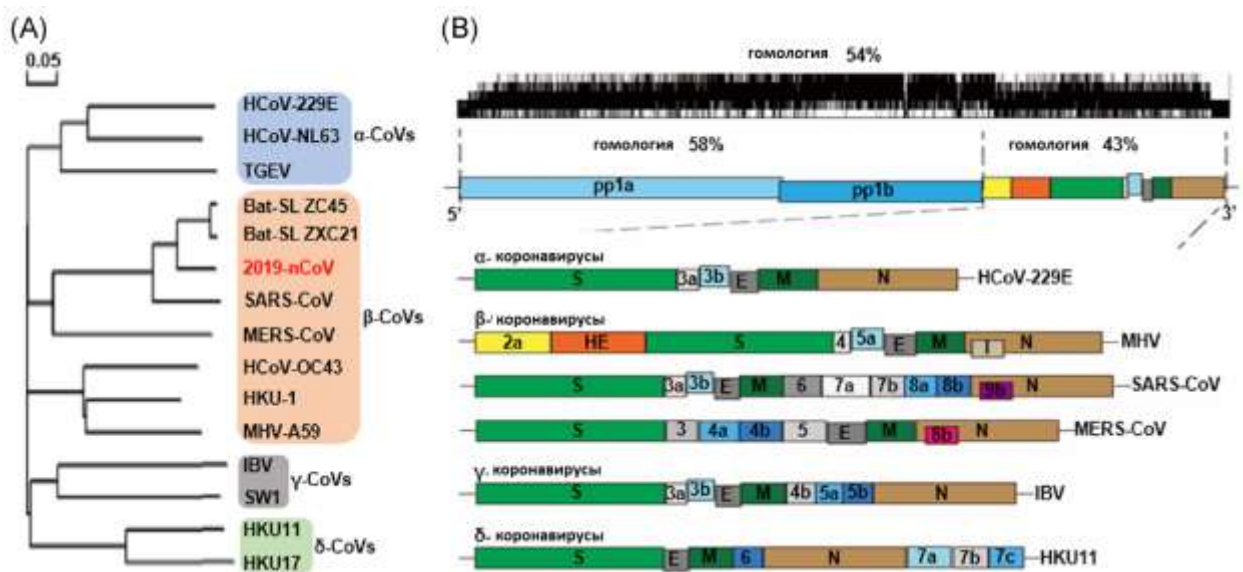
Коронавирусы (CoV) имеют полицистронную организацию генома и используют уникальный механизм транскрипции для генерации вложенного набора субгеномных (sg) мРНК. Эти мРНК используются для экспрессии открытых рамок считывания (ORF), расположенных ниже ORF репликазы 1a и 1b (см. Фиг. 1а), которые кодируют структурные и вспомогательные белки.

Геном коронавируса SARS имеет длину 29 727 нуклеотидов, геном SARS-CoV-2 – 29 844 нуклеотида и MERS – 30 119 нуклеотидов.

Геном и субгеномы типичного коронавируса содержат по меньшей мере шесть открытых рамок считывания (ORF). Существуют отличия в структуре продуктов ORF у гамма-коронавирусов, у которых отсутствует NSP 1. Кроме этого существует сдвиг между ORF1a и ORF1b, что приводит к производству двух полипептидов: pp1a и pp1ab. Другие ORF возле 3'-конца кодируют, по крайней мере, четыре основных структурных белка: спайк (S), мембранный (M), белок оболочки (E) и нуклеокапсидный (N) белок. Помимо этих 4 основных структурных белков, различные коронавирусы кодируют специальные структурные и вспомогательные белки, такие как белок HE, белок 3a / b и 4a / b. Все структурные и вспомогательные белки транслируются из sgRNA коронавирусов.

Около 2/3 емкости генома коронавирусов заняты двумя большими открытыми рамками считывания (ORF), которые вместе составляют ген репликазы, ORF1a и ORF1b (рис. 2). Эти ORF транслируются из вирусного генома, причем для экспрессии ORF1b требуется смещение рибосомы-1, которое должно происходить непосредственно перед терминирующим кодоном

ORF1a. В инфицированных коронавирусом клетках субъединицы репликазы, кодируемые в ORF1a, сверхэкспрессируются в фиксированном соотношении относительно белков, кодируемых в ORF1b. Основными продуктами трансляции CoV-репликазы являются два больших полипротеина: ORF1a-кодированный pp1a и С-концевой удлинённый продукт pp1ab (fig. 1 фф). Первый имеет длину приблизительно 4000–4500 аминокислот, в зависимости от вида коронавируса. Размер ORF1b более консервативен (около 2700 остатков), что приводит к размерам pp1ab в диапазоне 6700–7200 аминокислот. Вероятно, уже во время их синтеза либо две, либо три ORF1a-кодированные протеазы инициируют протеолитическое расщепление pp1a и pp1ab для высвобождения (иногда) 15 или (в основном) 16 функциональных неструктурных белков (nsp1-nsp 16) (Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Advances in Virus Research*. 2016;96:59-126. DOI: 10.1016/bs.aivir.2016.08.008.)



C

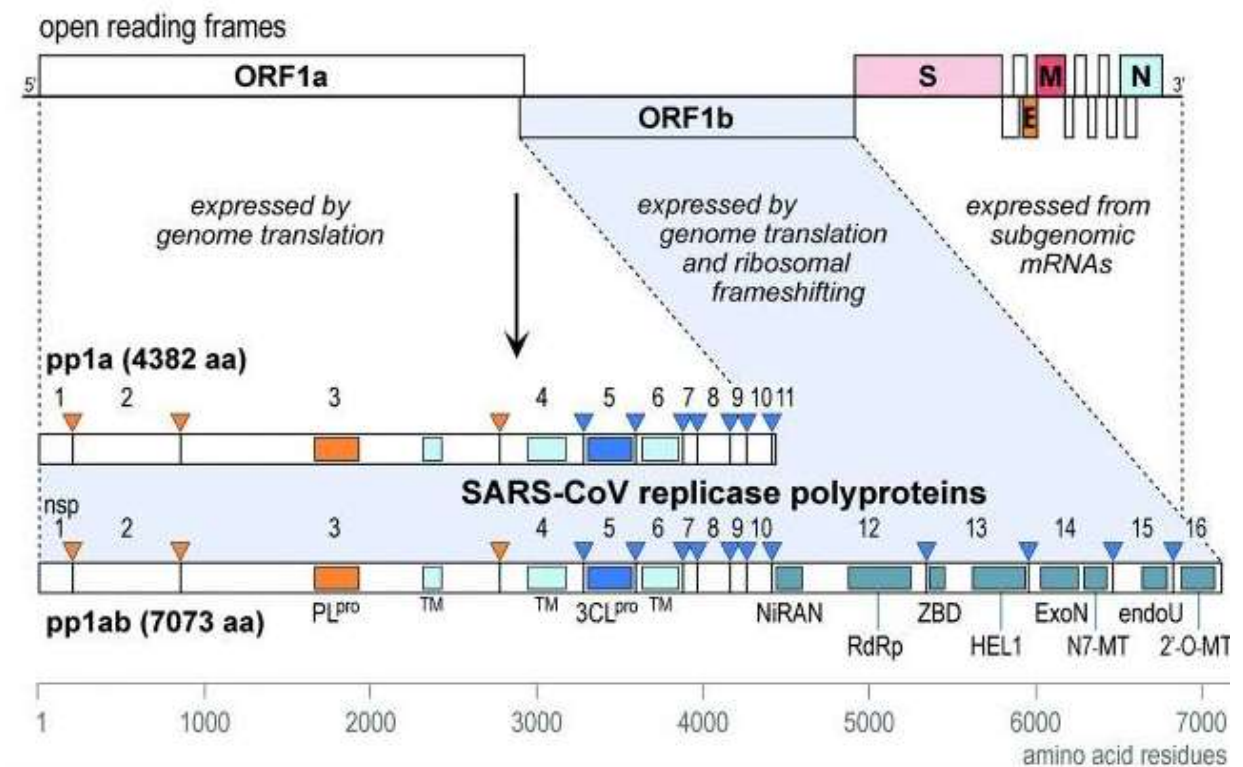


Рис.2. Структура генома и филогенетическое дерево коронавирусов А) Филогенетическое дерево коронавирусов с SARS-CoV-2 (новый коронавирус 2019-nCoV, выделен красным цветом). Б) Структура генома четырех родов коронавирусов. В) Полипептиды Pp1a и pp1b, которые превращаются в 16 неструктурных белков S, E, M и N обозначают четыре структурных белка: спайк, оболочечный, мембранный белки и нуклеопротеин. (HE - гемагглютинин-эстераза. Названия вирусов: HKU - коронавирусы; HCoV - человеческий коронавирус; IBV - вирус инфекционного бронхита; MHV - вирус мышинного гепатита; TGEV - вирус трансмиссивного гастроэнтерита).

Выравнивание последовательности геномов коронавирусов показывает гомологию 58% в кодирующей неструктурные белки области, 43% – в кодирующей структурные белки области и 54% – на уровне всего генома. (Рис. 3. Структура генома В, верхняя панель), предполагая, что неструктурные белки более консервативны, а структурные белки более разнообразны и поддерживают адаптацию вируса к новым хозяевам.

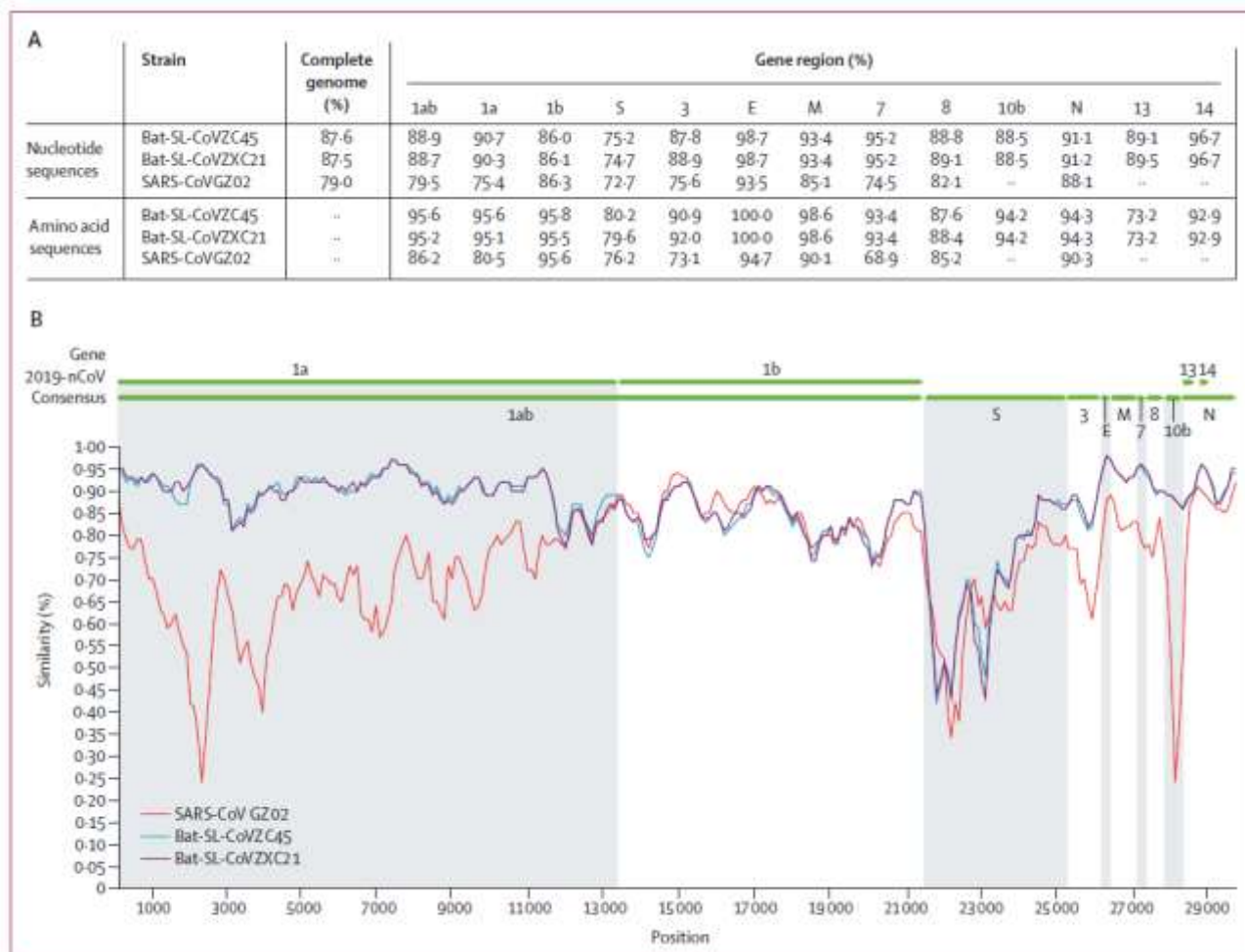


Рис.3. Идентичность последовательностей между консенсусом геномом нового коронавируса (2019-nCoV) и репрезентативными геномами бета-коронавируса (A) Идентификаторы последовательности для 2019-nCoV по сравнению с SARS-CoV GZ02 (инвентарный номер AY390556) и коронавирусами, похожими на SARS у летучих мышей bat-SL-CoVZC45 (MG772933) и bat-SL-CoVZXC21 (MG772934). (B) Сходство между 2019-nCoV и родственными вирусами. 2019-nCoV = 2019 новый коронавирус (Roujian Lu\*, Xiang Zhao\*, Juan Li\*, Peihua Niu\*, Bo Yang\*, Honglong Wu\*, Wenling Wang, Hao Song, Baoying Huang, Na Zhu, Yuhai Bi, Xuejun Ma, Faxian Zhan, Liang Wang, Tao Hu, Hong Zhou, Zhenhong Hu, Weimin Zhou, Li Zhao, Jing Chen, Yao Meng, Ji Wang, Yang Lin, Jianying Yuan, Zhihao Xie, Jinmin Ma, William J Liu, Dayan Wang, Wenbo Xu, Edward C Holmes, George F Gao, Guizhen Wu, Weijun Chen, Weifeng Shi, Wenjie Tan) Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding //Lancet, 22–28 February 2020, Volume 395, Issue 10224, , Pages 565-574, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)

При сравнении полных геномов нового коронавируса (рис. 3) выявлено, что наиболее близкими вирусами являются коронавирусы рукокрылых bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21 (идентичность последовательности геномов 87%; покрытие 98-99%). В пяти областях генома (E, M, 7, N и 14) идентичность превышала 90%, причем самый высокий процент – 98,7% был обнаружен в гене E. Ген S вируса SARS-CoV-2 показал самую низкую идентичность последовательности с коронавирусами bat-SL-CoVZC45 и bat-SL-CoVZXC21, всего около 75%. Кроме того, идентичность последовательности в 1b (около 86%) был ниже, чем в 1a (около 90%). Примечательно, что штаммы нового коронавируса SARS-CoV-2 были генетически менее сходны с SARS (около 79%) и MERS (около 50%). Сходство между SARS-CoV-2 и родственными вирусами визуализировано с помощью программного обеспечения SimPlot (Roujian Lu\*, Xiang Zhao\*, Juan Li\*, Peihua Niu\*, Bo Yang\*, Honglong Wu\*, Wenling Wang, Hao Song, Baoying Huang, Na Zhu, Yuhai Bi, Xuejun Ma, Faxian Zhan, Liang Wang, Tao Hu, Hong Zhou, Zhenhong Hu, Weimin Zhou, Li Zhao, Jing Chen, Yao Meng, Ji Wang, Yang Lin, Jianying Yuan, Zhihao Xie, Jinmin Ma, William J Liu, Dayan Wang, Wenbo Xu, Edward C



РНК кодирует четыре основных вирусных структурных белка, а именно гликопротеин (S), оболочечный (E), мембранный (M) и нуклеокапсидный (N) белки. Эти четыре структурных белка необходимы для сборки вириона.

Гликопротеин S коронавирусов является структурным белком пепломеров, формирующим булавовидные отростки на поверхности вириона, с помощью которых вирус прикрепляется к клеточным рецепторам. Белок S является крупнейшим среди четырех структурных белков коронавируса. Это трансмембранный белок типа I с крупным N-концевым эктодоменом, одним трансмембранным доменом и коротким эндодоменом в С-конце. В большинстве коронавирусов белок S расщепляется протеазами-хозяевами на две функциональные субъединицы примерно одинакового размера. N-концевой домен S1 составляет глобулярную головку белка S и содержит рецептор-связывающий домен (RBD), тогда как домен S2 формирует «ствол» белка S, за которым следуют две гептадные повторяющиеся области (heptad repeat regions - HR1 и HR2), трансмембранный домен и цитозольный хвост. Расщепление S-гликопротеина клеточными протеазами на два полипептида индуцирует способность вируса к репликации и вызывает слияние клеток. Белок S модифицируется образованием дисульфидных связей, гликозилированием N-конца и пальмитоилированием. Образование дисульфидной связи требуется для правильного сворачивания и тримеризации белка. N-связанное гликозилирование способствует антигенной, фузогенной и иммуномодулирующей активности белка. Пальмитоилирование в консервативных цитозольных остатках цистеина необходимо для транспортировки и сворачивания белка S, способствует сборке вириона и влияет на инфекционность вируса.

Белки M и E играют важную роль в сборке вируса.

Белок M является наиболее распространенным белком в вирионе коронавируса. Размер колеблется от 220 до 260 аминокислот. Белок содержит три гидрофобных трансмембранных домена с коротким N-концевым эктодоменом и крупным С-концевым эндодоменом. Белок M обеспечивает образование каркаса для сборки вириона, в то время как взаимодействие с другими белками приводит к доставке комплекса и геномной РНК к месту сборки вириона. Единственная известная посттрансляционная модификация белка M – гликозилирование его эктодомена, которое является исключительно O-связанным, в некоторых бета-коронавирусах, но исключительно N-связанным – в других коронавирусах. O-связанное и N-связанное гликозилирование не требуется для сборки вириона. O-связанное гликозилирование способствует индукции интерферона типа I.

Белок E играет роль в сборке вируса. Анализ первичной и вторичной структуры показал, что белок E имеет короткий гидрофильный конец, состоящий из 7–12 аминокислот, за которыми следует гидрофобный трансмембранный домен (TMD) из 25 аминокислот и заканчивается длинным гидрофильным концом, который включает в себя большую часть белка. В последних четырех аминокислотах С-конца белка E коронавируса SARS обнаружен PBM домен, играющий значимую роль в изменении патогенности вируса (Schoeman D., Fielding B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge //Virology Journal (2019) 16:69, p.1-22). Предполагается, что белок E вируса инфекционного бронхита содержит один сайт гликозилирования в N-конце (в консенсусной последовательности Asn-X-Ser / Thr), в то время как белок E SARS может содержать два

потенциальных сайта гликозилирования. Информации по гликозилированию белка E SARS-CoV-2 и его роли очень мало. Пальмитоилирование способствует стабильности и переносу белка E вируса гепатита мыши (MHV) и требуется для эффективной сборки вирионов.

Белок N содержит два домена (N- и C-концевые домены), оба могут связывать вирусную РНК, С-концевой домен также важен для димеризации белка N. Кроме этого показано, что С-конец является критически важным для взаимодействия белков N и М коронавируса. Белок N может связываться с nsp3 белком, способствуя связи геномной РНК с обратным транскриптазным комплексом (RTC) и упаковке генома в вирионы. N-белок является антагонистом интерферона (IFN). Белок N модифицируется в основном фосфорилированием, которое обычно происходит в N- и С-концевых доменах и в серин/аргинин богатых районах белка. Показано, что нефосфорилированная форма белка N (57 кДа) выявляется исключительно в цитозоле, а последующая фосфорилированная (60 кДа) форма связана с клеточной мембраной и находится в зрелом вирионе, что может свидетельствовать о важности фосфорилирования для регулирования сборки вириона. Сайты фосфорилирования и соответствующие протеинкиназы были идентифицированы для некоторых коронавирусов. Для альфа-коронавируса TGEV в N-белке были идентифицированы четыре сайта фосфорилирования, а именно S9, S156, S254 и S256. С помощью масс-спектропии в IBV были идентифицированы два кластера сайтов фосфорилирования, а именно кислотные остатки S190/S192 и T378/S379. Важно то, что фосфорилированный белок N вируса IBV связывался с вирусной РНК с более высокой аффинностью, чем с невирусной РНК, по сравнению с нефосфорилированным N-белком IBV. Это предполагает, что фосфорилирование белка N может способствовать дифференциальному распознаванию вирусной РНК. Белок N расщепляется каспазой во время апоптоза, вызванного коронавирусом (To Sing Fung, Ding Xiang Liu. Post-translational modifications of coronavirus proteins: roles and function //Future Virol. (2018) 13(6), 405–430).

У ряда бета-коронавирусов обнаружен белок гемагглютинин-эстераза (Г-Э, HE-hemagglutinin-esterase), который образует второй, меньший по размеру шип на оболочке некоторых коронавирусов этого рода (Kienzle et al., 1990; Smits et al., 2005; Yokomori et al., 1991, 1989). Г-Э синтезируется в виде полипептида с молекулярной массой 42 кДа, гликозилированного до 65 кДа, с помощью дисульфидной связи образует гомодимер. Гемагглютинин-эстераза вируса MHV (Mouse hepatitis virus) имеет 30%-ную гомологию последовательности с субъединицей HA1 гемагглютинина вируса гриппа С (Luytjes et al., 1988), приводя к предположению, что ген Г-Э был получен с помощью негомологичной РНК-рекомбинацией с участием бета-коронавируса, который не кодирует белок Г-Э (Snijder et al., 2003). Белок Г-Э связывает сиаловую кислоту и ацетилэстеразу (или разрушает рецептор) (Brian et al., 1995; Kienzle et al., 1990), что потенциально может способствовать проникновению и/или высвобождению вируса с поверхности клетки посредством взаимодействия с сиаловой кислотой.

Внутренний белок (I – internal protein) представляет собой гидрофобный ассоциированный с мембраной вириона структурный белок с неизвестной функцией молекулярной массой 23 кДа. Ген I кодируется в пределах 1-й рамки считывания N orf (Fischer et al., 1997).

Для большинства неструктурных белков nsp 1-16 их конкретные роли в репликации коронавируса описаны. Описаны также посттрансляционные модификации неструктурных белков. Неструктурные белки nsp3 и nsp4 – это трансмембранные белки, модифицированные гликозилированием N-конца, что может играть критическую роль во время синтеза вирусной РНК и образования везикулы с двойной мембраной. Белок nsp9 человеческого коронавируса 229E образует гомодимер, связанный дисульфидной связью, что может влиять на его аффинность

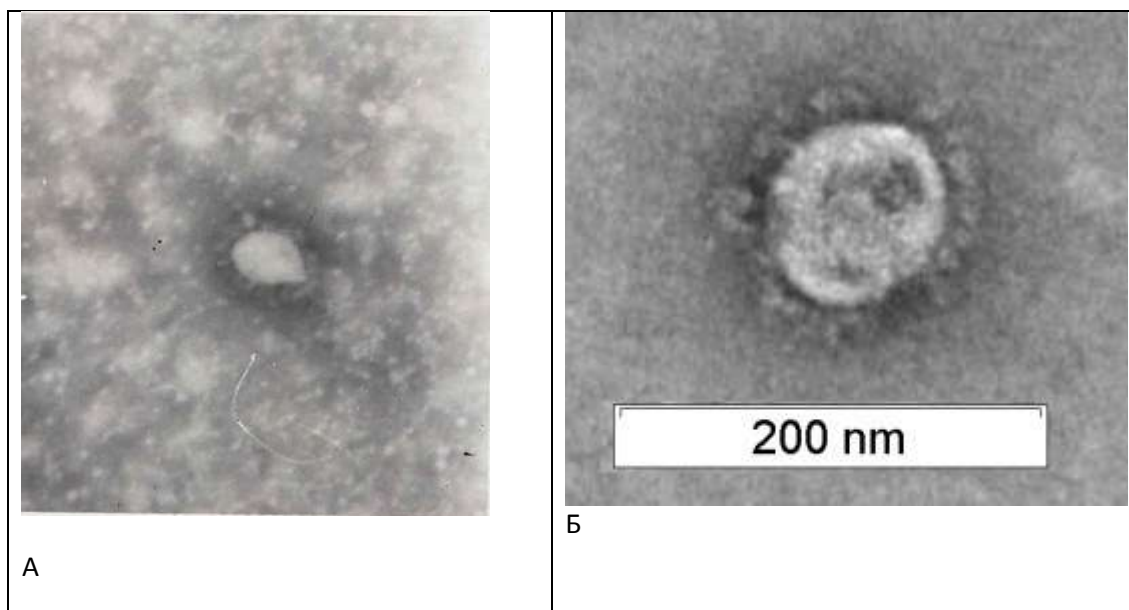
связывания с РНК. Белок nsp16 коронавируса SARS взаимодействует с Е3 лигазой Е3 von Hippel Lindau. Гемагглютинин-эстераза некоторых бета-коронавирусов, белки 3a и 8ab вируса SARS и 3b вируса TGEV являются вспомогательными белками, модифицированными гликозилированием. Белок nsp3 подавляет продукцию интерферона типа I и его функцию передачи сигналов. SARS-уникальный домен в белке nsp3 коронавируса SARS усиливает активность Е3 лигазы RCHY1 (Ring Finger And CHY Zinc Finger Domain Containing 1, белок, содержащий домен цинкового пальца) и способствует протеасомной деградации p53, тем самым модулируя активацию врожденного иммунного ответа. Белки N, ORF6 и ORF9b вируса SARS препятствуют убиквитинированию клеточных белков и модулируют врожденный иммунитет хозяина. Белок nsp5 коронавируса свиней (PDCoV - porcine deltacoronavirus) обеспечивает расщепление NEMO и STAT2, подавляя продукцию интерферона типа I и его функцию передачи сигналов (To Sing Fung, Ding Xiang Liu. Post-translational modifications of coronavirus proteins: roles and function //Future Virol. (2018) 13(6), 405–430.)

Коронавирусы SARS и MERS обладают пятью и восемью дополнительными белками, соответственно, которые могут влиять на передачу сигналов активации интерферонов типа I.

Генетические характеристики вирусов SARS, MERS и SARS-CoV-2			
	SARS	MERS	SARS-CoV-2
Длина генома	29 727 нуклеотидов	30 119 нуклеотидов	29 844 нуклеотида
Открытые рамки считывания (ORF)	11	11	
Количество структурных белков	4	4	
Длина спайк S (spike) белка	1 255 нуклеотидов	1 353 нуклеотида	1 271 нуклеотид
<b>Субъединица S1</b>			
-Рецептор-связывающий домен (RBD)	318-510	367-588	333-527
-Рецептор-связывающий мотив (RBM)	424-494	484-567	438-506
<b>Субъединица S2</b>			
-Heptad repeat 1 (HR1) домен	892-1013	984-1104	-
-Heptad repeat 2 (HR2) домен	1145-1190	1246-1295	-
Количество неструктурных (NS) белков	Как минимум 5	16	16
Количество вспомогательных белков (Accessory proteins)	8	5	-
Порядок расположения генов	5'-replicase ORF1ab, spike (S), envelope (E), membrane (M), nucleocapsid (N)-3'		

Вирионы имеют сферическую форму диаметром 60–140 нм. Поверхность вириона покрыта булавовидными отростками (S-гликопротеин) длиной около 20 нм, придающими им неповторимую форму короны, безошибочно распознаваемой при электронно-микроскопическом

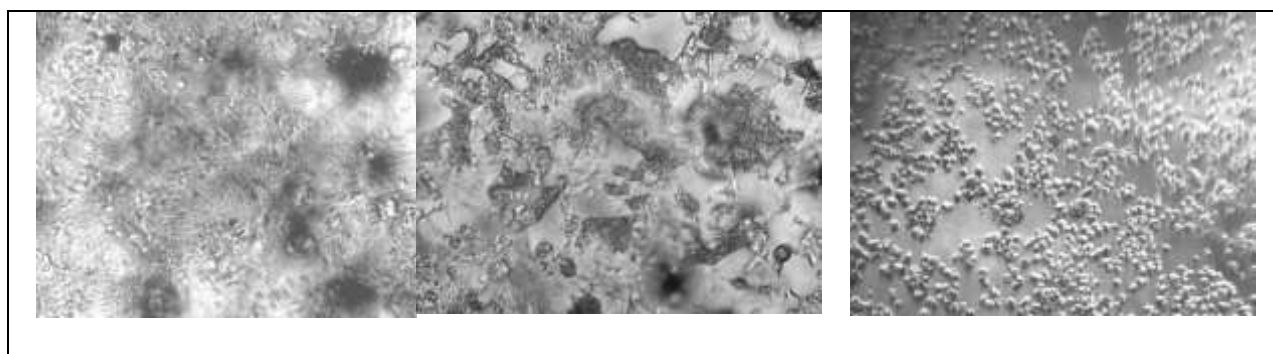
исследовании.



**Рис. 4. Электронные фотографии вирионов коронавируса SARS (А), SARS-CoV-2 (Б), получены в ГНЦ ВБ «Вектор», негативное контрастирование уранилацетатом**

Проникновение коронавируса SARS в клетку происходит через ACE2 рецептор, CD209L является альтернативным рецептором с гораздо более низким сродством. В дыхательных путях ACE2 широко экспрессируется на эпителиальных клетках альвеол, трахеи, бронхов, альвеолярных моноцитах и макрофагах. Проникновение коронавируса MERS в клетку происходит через многофункциональный белок клеточной поверхности дипептидил пептидаза 4 (DPP4, также известная как CD26), которая широко экспрессируется на эпителиальных клетках в почках, альвеолах, тонкой кишке, печени и простате, а также на активированных лейкоцитах. (de Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host Factors in Coronavirus Replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2018;419:1-42. doi:10.1007/82\_2017\_25)

Наблюдаемый под микроскопом процесс разрушения клеток при размножении вируса SARS-CoV-2 показан на рис. 5, 6.



А	Б	В
<p>Рис.5. Разрушение монослоя клеток Vero E6, зараженных коронавирусом SARS-CoV-2 штамм «Виктория» А) 2-сут., Б) 5 сут., В) 6 сут. [фотография получена в ГИЦ ВБ «Вектор»]</p>		

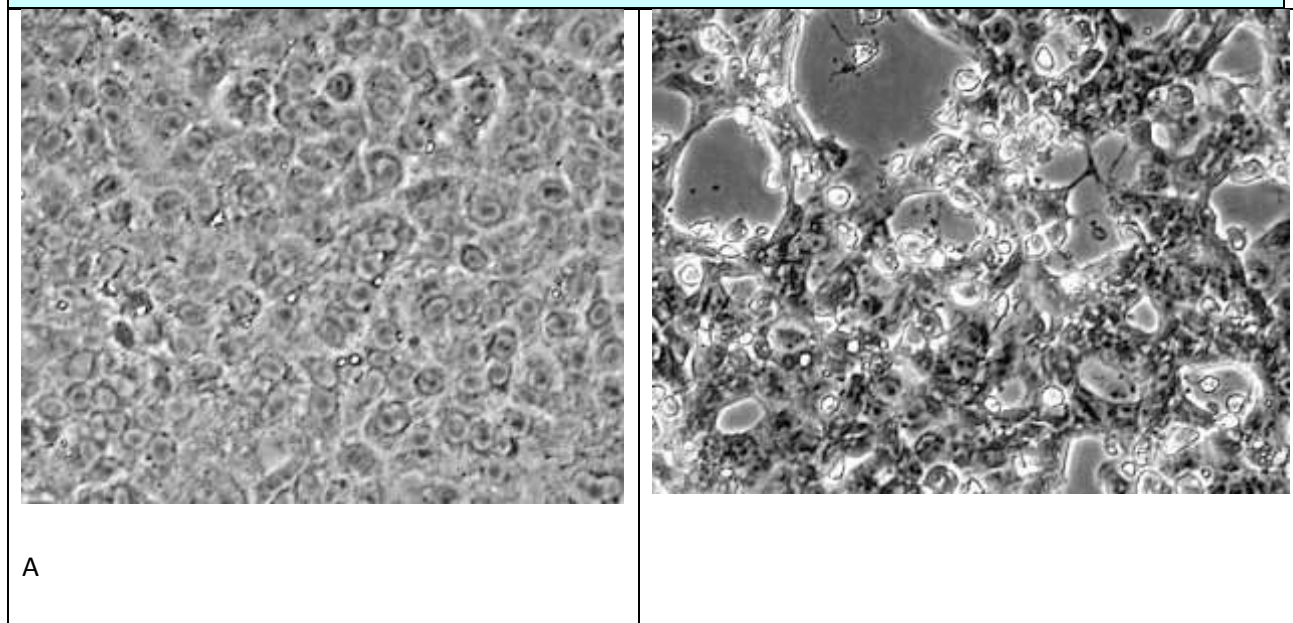
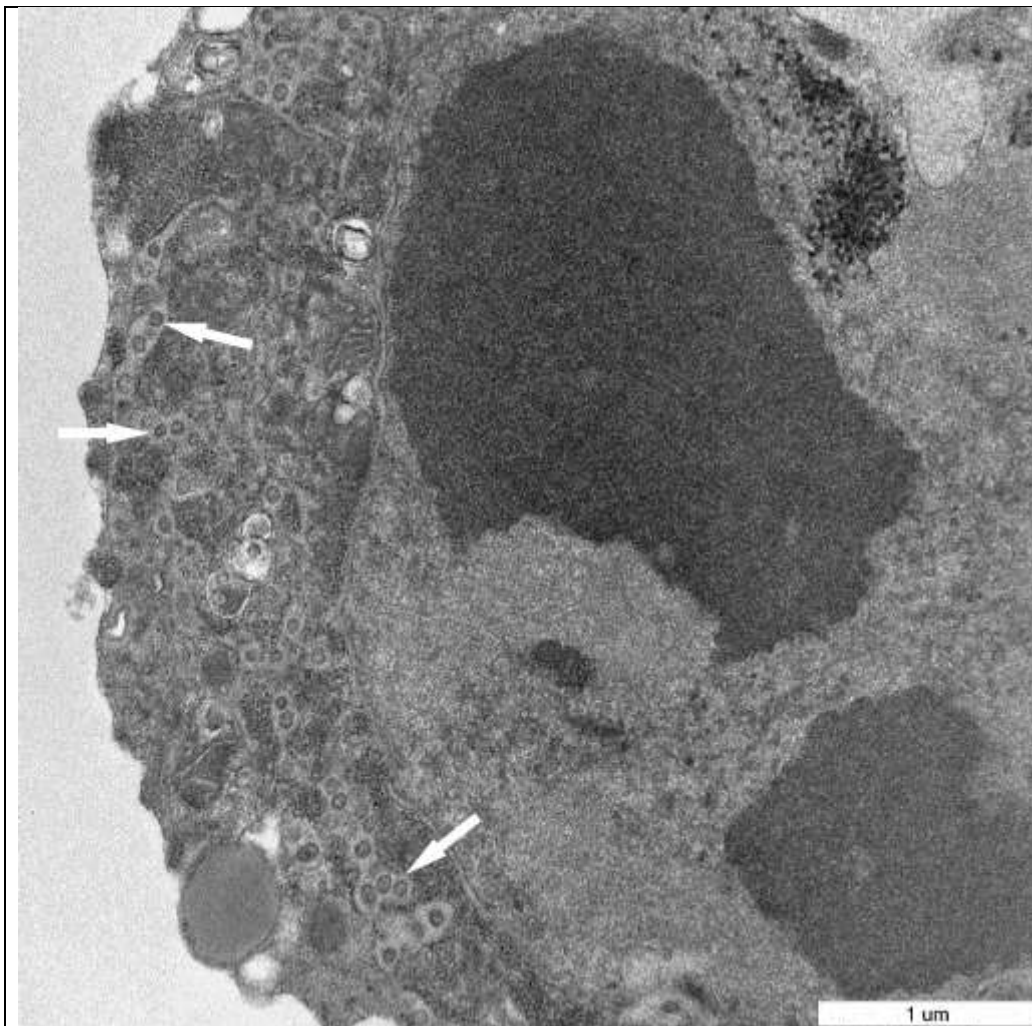


Рис.6. Разрушение монослоя клеток Vero E6, зараженных коронавирусом SARS-CoV-2 штамм «Виктория» А) 0-сут., Б) 4 сут. [фотография получена в ГИЦ ВБ «Вектор»]

Формирование вирионов коронавируса происходит путем «почкования» на поверхности зараженных клеток. На рис. 7 (А) показана клетка культуры Vero, репродуцирующая коронавирус MERS.



A

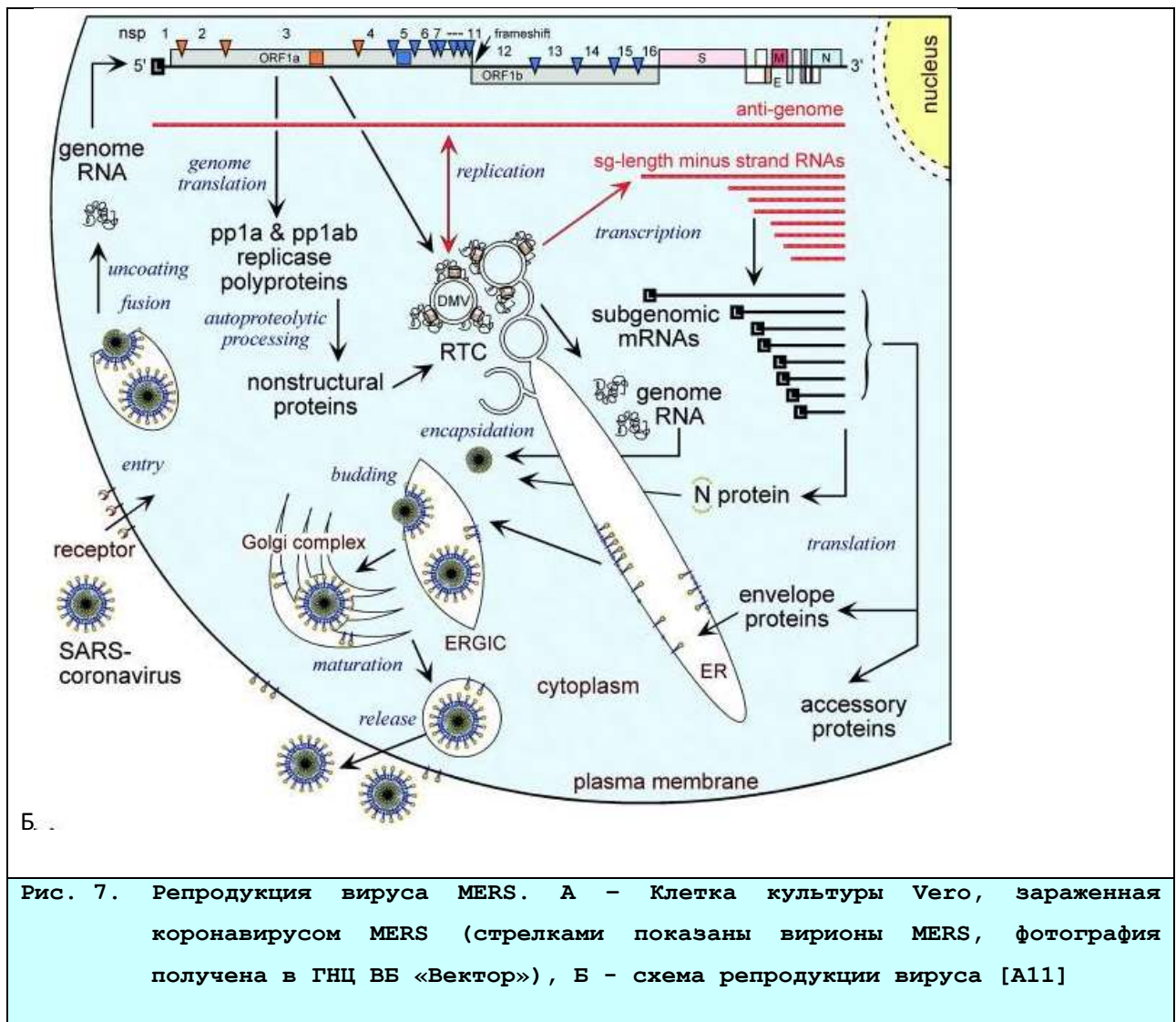


Рис. 7. Репродукция вируса MERS. А – Клетка культуры Vero, зараженная коронавирусом MERS (стрелками показаны вирионы MERS, фотография получена в ГНЦ ВБ «Вектор»), Б – схема репродукции вируса [A11]

Коронавирус SARS-CoV-2 проникает в клетку через рецептор ACE2 (ангиотензин-превращающего фермент II), также известный как ACEH, который является членом семейства дипептидил-карбоксидипептидаз, высоко гомологичен ACE1. ACE1 и ACE2 превращают ангиотензин 1 в ангиотензин 1-9 и ангиотензин 2 – в ангиотензин 1–7. ACE2 имеет высокое сродство к рецепторам ангиотензин II типа 1 и типа 2 и играет важную регулируемую роль во многих физиологических функциях, таких как пролиферация клеток и гипертрофия, воспалительная реакция, коррекция кровяного давления и водно-солевого баланса. ACE2 специфически экспрессируется в определенных органах и тканях и играет важную роль в регуляции работы сердечно-сосудистой системы, мочевыводящей и репродуктивной функций (A.J. Turner, Chapter 25 - ACE2 cell biology, regulation, and physiological functions, in: T. Unger, U.M. Steckelings, R.A.S. dos Santos (Eds.), The Protective Arm of the Renin Angiotensin System (RAS), Academic Press, Boston, 2015, pp. 185–189.; E.M. Richards, M.K. Raizada, ACE2 and pACE2: a pair of aces for pulmonary arterial hypertension treatment? Am. J. Respir. Crit. Care Med. 198 (4) (2018) 422–423). Анализ продукта гена ACE2 в 27 различных типах тканей и 95 образцах тканей человека показал, что экспрессия ACE2 высока в двенадцатиперстной и тонкой кишке и низка – в легких. Кроме того, выраженная экспрессия ACE2 обнаружена в клетках плацентарной хориокарциномы (BEWO), эпидермальных клетках человека (HaCaT), раковых клетках печени (HepG2), клетках острого промиелоцитарного лейкоза (NB-4), клетках множественной миеломы (RPMI 8226), клетках рака мочевого пузыря (RT4) и клетках глиобластомы (SHSY5Y) (Yuhao Zhang et al. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system //Biomedicine & Pharmacotherapy 127 (2020) 110195).

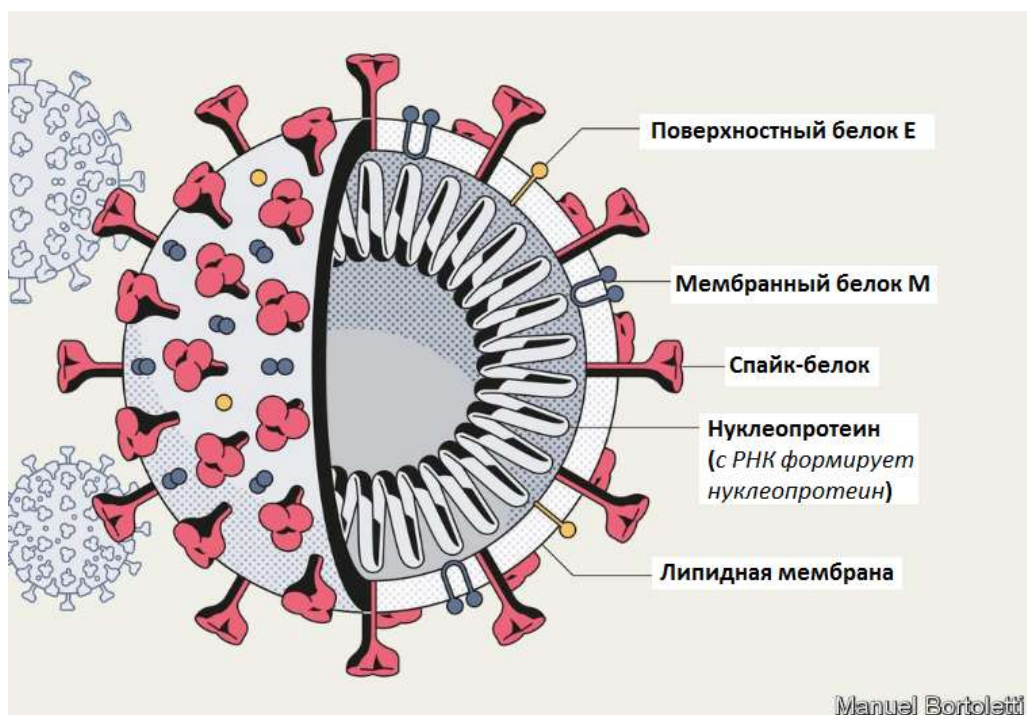


Рис.8. Схема строения коронавируса

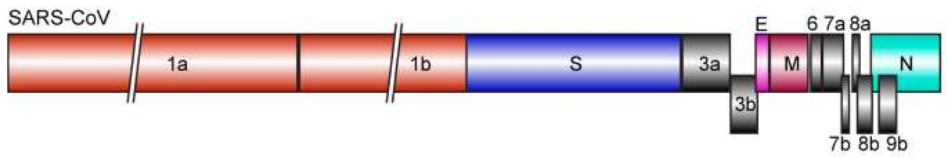
<https://www.economist.com/briefing/2020/03/12/understanding-sars-cov-2-and-the-drugs-that-might-lessen-its-power>


Таблица 1. Свойства коронавирусов и белков вириона

Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Advances in Virus Research*. 2016 ;96:59-126. DOI: 10.1016/bs.aivir.2016.08.00

Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7\_1



<p><b>Вирион</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Размер</li> <li>• Форма</li> <li>• Физические свойства</li> </ul>	<p>➤ от 60 до 140 nm</p> <p>➤ сферическая</p> <p>При комнатной температуре вирус способен сохранять жизнеспособность на пластиковых поверхностях до 72 ч, в фекалиях – более 2 суток, а при повышении рН последних (например, при диарее) – до 4 суток. Нагревание до 56°C инактивирует вирус в течение 15-30 мин. В высушенном виде при -70°C вирус сохраняет инфекционную активность в течение нескольких лет, эффективно инактивируется дезинфектантами.</p>
<p><b>РНК</b></p>	<p>одноцепочечная, положительной полярности, размер = около 30 000 оснований.</p>
<p><b>Последовательность генов (на примере SARS)</b></p>	 <p>The diagram illustrates the linear arrangement of genes in the SARS-CoV genome. From left to right, the genes are: 1a (red), 1b (red), S (blue), 3a (grey), 3b (grey), E (pink), M (pink), 6 (grey), 7a (grey), 8a (grey), 7b (grey), 8b (grey), 9b (grey), and N (green). The S gene is the largest and is flanked by 1a and 1b. The M gene is flanked by E and 6. The N gene is the smallest and is flanked by 8a and 9b.</p>

Белок	Размер		Локализация		Предполагаемые свойства и важные особенности
	Аминокислот	Мол. масса (кДа)	В инфицированной клетке	В вирионе	
<p>Спайк (spike -S)</p> 	1160-1400	180-200	Цитоплазма	Поверхностный, трансмембранный	<p>Содержит от 1160 аминокислот для вируса инфекционного бронхита птиц (IBV) и до 1400 аминокислот – для кошачьего коронавируса (FCoV). Белок сильно гликозилирован, содержит от 21 до 35 сайтов N-гликозилирования. Собирается в тримеры на поверхности вириона, формирует отличительную «корону». Имеет одинаковую организацию в двух доменах: N-концевой домен с именем S1, который отвечает за связывание рецептора, и C-концевой домен S2, который отвечает за слияние. Субъединица S2 консервативна, субъединица S1 вариабельна.</p>
<p>Нуклеопротеин (nucleoprotein-N)</p>	500	43-60	Цитоплазма	Нуклеокапсид	<p>Наиболее широко представлен среди вирусных белков, связывается с + и – РНК, фосфорилирован.</p>



Белок E  
(E-protein)

76-109

8-12

С-конец расположен в цитоплазме, N-конец находится в просвете комплекса Гольджи, ЭПР

Поверхностный, трансмембранный

Более распространен в инфицированных клетках, чем в вирионах, участвует в регуляции транскрипции и репликации, образует комплекс с N и L, фосфорилирован.



Мембранный  
(M protein)

220-260

25-30

Внутренний листок плазматической мембраны, цитоплазма (персистентно инфицированные клетки)

Трансмембранный

Сборка вирионов и их инкапсуляция. Возможно, ингибирует транскрипцию.

Неструктурный белок 1 (nsp-1)

Клеточная деградация мРНК, ингибирование регуляции продукции интерферона

Неструктурный белок 2 (nsp-2)

Неизвестно

Неструктурный белок 3 (nsp-3)

Участие в расщеплении полипептидов, блокирование иммунного ответа, коррекция экспрессии цитокинов, взаимодействует с N-белком

Неструктурный белок 4 (nsp-4)

Трансмембранный каркасный белок, участие в формировании мембранной везикулы

Неструктурный белок 5 (nsp-5)

Химотрипсин-подобная протеаза, М-протеаза, расщепление полипротеина, ингибирование регуляции продукции интерферона

Неструктурный белок 6 (nsp-6)		Ограничение формирования аутофагосом, трансмембранный каркасный белок, участие в формировании мембранной везикулы
Неструктурный белок 7 (nsp-7)		Кофактор для nsp-8 и nsp-12
Неструктурный белок 8 (nsp-8)	~200	Кофактор для nsp-7 и nsp-12, праймаза
Неструктурный белок 9 (nsp-9)	~110	Димер, связывание в основном одноцепочечной РНК не специфичным для последовательности образом
Неструктурный белок 10 (nsp-10)	139 для SARS	Консервативный белок, служит многофункциональным кофактором в репликации, каркасный белок для выполнения функций белками nsp-14 и nsp-16
Неструктурный белок 11 (nsp-11)		Неизвестно
Неструктурный белок 12 (nsp-12)		Праймер-регулируемая РНК-зависимая РНК-полимераза
Неструктурный белок 13 (nsp-13)		РНК-хеликаза, 5'-трифосфатаза
Неструктурный белок 14 (nsp-14)		Экзорибонуклеаза, N7-метилтрансфераза
Неструктурный белок 15 (nsp-15)		Эндорибонуклеаза, маскирует от связывания с дсРНК хозяина в макрофагах

Неструктурный белок 16 (nsp-16)

2'-О-метилтрансфераза, распознавание MDA5 (melanoma differentiation-associated protein 5),

подавление регуляции иммунитета

## Заболееваемость коронавирусами

Различные коронавирусы демонстрируют различный спектр хозяев и тканевой тропизм. Обычно альфа- и бета-коронавирусы поражают млекопитающих. Напротив, гамма- и дельта-коронавирусы поражают птиц и рыб, хотя некоторые из них могут также заразить млекопитающих. Некоторые коронавирусы способны инфицировать домашний скот и птицу и могут нанести большой экономический ущерб. Например, в 2016 году коронавирус летучей мыши NVU2 вызвал крупномасштабную вспышку смертельного заболевания у свиней в Южном Китае, при которой погибли около 24 тысяч поросят. Это первое документированное распространение коронавируса летучих мышей, вызвавшее тяжелое заболевание в животноводстве.

### Основные патогенные для человека и животных коронавирусы

(Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J Med Virol. 2020;92:418–423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>).

Вирус	Род	Хозяин	Симптомы болезни
Человеческий коронавирус CoV-229E	Альфа-	Человек	Инфекция среднего респираторного тракта
Человеческий коронавирус CoV-HL63	Альфа-	Человек	Инфекция среднего респираторного тракта
PRCV/ISU-1	Альфа-	Свинья	Инфекция среднего респираторного тракта
TGEV/PUR46-MAD	Альфа-	Свинья	Диарея, 100%-ная летальность для молодняка до 2-недельного возраста
PEDV/ZJU-G1-2013	Альфа-	Свинья	Тяжелая диарея
SeACoV-CH/GD-01	Альфа-	Свинья	Тяжелая острая диарея с выраженным токсическим синдромом
Canine CoV/TU336/F/2008	Альфа-	Собаки	Диарея, умеренные клинические признаки
Camel alphacoronavirus isolate camel/Riyadh	Альфа-	Верблюды	Бессимптомное течение
Feline infectious peritonitis virus	Альфа-	Кошки	Лихорадка, васкулит, серозит
Человеческий коронавирус CoV-NKU1	Бета-	Человек	Пневмония

Человеческий коронавирус CoV-OC43	Бета-	Человек	Инфекция среднего респираторного тракта
Коронавирус SARS	Бета-	Человек	Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS) или «атипичная пневмония», летальность – около 10%
Коронавирус MERS	Бета-	Человек	Ближневосточный респираторный синдром (БВРС, MERS), летальность – около 35%
Коронавирус SARS-CoV-2	Бета-	Человек	COVID-19, летальность – около 4 (1-15) %
Bovine CoV/ENT	Бета-	КРС	Диарея
Equine CoV/Obihiro12-1	Бета-	Лошади	Лихорадка, потеря аппетита, лейкопения
MHV-A59	Бета-	Мыши	Острая пневмония с тяжелым поражением легких
Beluga Whale CoV/SW1	Гамма-	Китообразные	Болезнь легких, острая печеночная недостаточность
IBV	Гамма-	Цыплята	Острое респираторное заболевание
Bulbul coronavirus HKU11	Дельта-	Бюльбюли, короткопалые дрозды	Респираторное заболевание (вирус выделен из дыхательных путей мертвых диких птиц)
Sparrow coronavirus HKU17	Дельта-	Воробьи	Респираторное заболевание (вирус выделен из дыхательных путей мертвых диких птиц)

### **Коронавирусы птиц**

Количество видов птиц, в которых были обнаружены коронавирусы в последние годы, огромно. До последнего времени знания о коронавирусах у птиц были ограничены в основном тремя представителями отряда *Galliformes*, а именно курами (*Gallus gallus*), индейками (род *Meleagris*) и фазанами (*Phasianidae*), с их вирусом инфекционного бронхита кур (ВИБК, IBV), коронавирусом индейки (ТCoV) и коронавирусом фазана (PhCoV), соответственно. Эти три вируса долгое время считались разными видами по нескольким причинам: разные органы мишени (энтеротропный или респираторный), спектр хозяев и антигенность белков (Cavanagh, 2007). Все изменилось после открытия нескольких новых коронавирусов с высоким генетическим разнообразием у разных видов птиц и принятия новых правил для обозначения видов (исследовательская группа по коронавирусу (CSG [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna\\_viruses/222/coronaviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae)). Коронавирус, который был обнаружен у пингвинов, голубей, павлинов, попугаев, водоплавающих птиц – чирок, перепел, утка и лебедь-кликун (Cavanagh et al., 2002; Circella et al., 2007; Domanska-Blicharz et al., 2014; Torres et al., 2013; Hughes et al., 2009; Liu et al., 2005; Wille et al., 2016; Jordan et al., 2015; Bande et al., 2016; Suryaman et al., 2019) был определен как один и тот же вид вируса – птичий коронавирус (ACoV) в пределах подрода *Igacovirus* рода *Gammacoronavirus*.

ВИБК и ВИБК-подобные штаммы обнаруживаются во многих видах птиц, в части из которых заболевание течет бессимптомно. Это может означать, что эти виды являются природными резервуарами и способствуют распространению штаммов ВИБК по всему миру (de Wit et al., 2011). ВИБК вызывает инфекционный бронхит, термин, принятый в 1931 году для описания основных клинических характеристик трансмиссивного респираторного заболевания домашней птицы, выявленного впервые в Северной Дакоте (США). Инфекционный бронхит является одним из самых важных вирусных заболеваний домашней птицы, характеризуется поражением респираторного тракта, иногда почек и репродуктивных органов и зависит от штамма вируса (Cavanagh and Gelb, 2008).

С годами возникло множество антигенных или генотипических вариантов ВИБК, с различающимися молекулярными, биологическими, антигенными свойствами. Коронавирус ИБК обладает значительной способностью изменяться как за счет точечных мутаций, так и при рекомбинации, которая может вызвать вставки в геном (Cavanagh and Gelb, 2008). Особенно часто появление новых вариантов связано с изменениями в гипервариабельной области S1. В настоящее время выделяют 32 линии, разделенные на шесть генотипов (от G I до G VI) (Valastro et al., 2016). Через S-белок вирус ИБК и ВИБК-подобные штаммы распознают как клеточные рецептор-хозяин-гликан сиаловой кислоты, связанный с  $\alpha 2,3$ , широко распространенный в дыхательных путях и в некоторых других тканях хозяина. Широкое использование вакцин в значительной степени способствовало появлению новых вариантов ВИБК за счет рекомбинации между вакцинами и дикими штаммами вируса, а также под влиянием давления иммунной системы вакцинированных птиц (Nicola Decaro, Alessio Lorusso. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses // Veterinary Microbiology 244 (2020) 108693).

## **Коронавирусы рукокрылых**

Летучие мыши являются древней и разнородной группой и представляют почти четверть всего разнообразия млекопитающих на земле. Они принадлежат к порядку рукокрылых *Chiroptera*, который состоит из двух подотрядов *Yinpterochiroptera* и *Yangochiroptera*. Считается, что летучие мыши содержат большое количество вирусов разных семейств, среди прочих: лиссавирусы, филовirusы, хенипавирусы, реовирусы (Calisher et al., 2006). Первое свидетельство о нахождении коронавируса у летучих мышей было опубликовано в 2005 году (Poop et al., 2005). После эпидемии атипичной пневмонии в 2003 году более 200 новых коронавирусов были идентифицированы у летучих мышей. Примерно 35% виroma летучей мыши на сегодняшний день состоит из коронавирусов (Chen et al., 2014), однако в настоящее время лишь небольшая часть этих коронавирусов была официально признана международным таксономическим комитетом.

Наиболее близкородственный для SARS-CoV-2 вирус (96,2% нуклеотидов идентичность последовательности) штамм BatCoV-RaTG13 идентифицирован у летучей мыши *Rhinolophus affinis* из провинции Юньнань, Китай (Nicola Decaro, Alessio Lorusso. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses // Veterinary Microbiology 244 (2020) 108693)



Рис. 9. *Rhinolophus affinis* (<http://www.bio.bris.ac.uk/research/bats/China%20bats/rhinolophusaffinis.htm>)

Летучие мыши являются переносчиками коронавирусов, однако, как показали исследования (Ahn, M., Anderson, D.E., Zhang, Q. et al. Dampened NLRP3-mediated inflammation in bats and implications for a special viral reservoir host. *Nat Microbiol* 4, 789–799 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0371-3>), сами практически не реагируют на присутствие вируса. В исследовании сравнивали реакцию первичных иммунных клеток летучих мышей, лабораторных мышей и людей на инфицирование коронавирусом MERS, вирусом гриппа А и вирусом Melaka. В клетках летучих мышей обнаружена пониженная активность образования белка NLRP3, отвечающего за запуск воспалительного процесса при заражении инфекционными агентами. Это приводит к тому, что летучие мыши не реагируют на инфекцию излишним воспалительным ответом, который часто приводит к патологическим поражениям. Четкая демонстрация ослабленных воспалительных реакций первичных иммунных клеток летучей мыши, не связанных с вирусной нагрузкой, согласуется с уникальным бессимптомным статусом вирусного резервуара у летучих мышей и характерна только для этого вида животных. Таким образом, особенности иммунной системы летучих мышей позволяют бессимптомно переносить присутствие в их организме таких опасных для человека вирусов, как коронавирусы SARS, MERS, SARS-CoV-2, вирусы Нипах и Хендра, эболавирусы, марбургвирус и др.

### **Коронавирусы грызунов**

Аналогично летучим мышам, но в меньшей степени, грызуны также играют важную роль в эволюции коронавирусов, в частности те, которые принадлежат к подроду *Embecovirus* рода *Betacoronavirus*. Грызуны (*Rodentia*) – самый крупный отряд млекопитающих, состоящий из более чем 2000 видов, распространенных по всему миру, они являются одним из основных источников зоонозных инфекционных заболеваний (Han et al., 2015). На протяжении многих лет только один вид коронавирусов – коронавирус мышей (*Murine coronavirus*, подрод *Embecovirus*, род *Betacoronavirus*), был связан с грызунами. Прототипный вирус, который был назван вирусом гепатита мыши (MHV), был впервые выделен из мыши в 1949 году. (Cheever et al., 1949). Вариант

MHV был в 1970 году идентифицирован у крыс (Parker et al., 1970). Процесс выявления новых коронавирусов у грызунов продолжается: анализ 1465 грызунов, отловленных в провинции Чжэцзян, Китай, в течение 2011–2013 годов, показал, что почти 2% грызунов дали положительный результат на содержание коронавирусов (Wang et al., 2015). В частности, коронавирусы были обнаружены у мыши (*Apodemus agrarius*) и у крыс (*Rattus norvegicus*, *Rattus losea*, *Rattus tanezumi*, *Niviventer confucianus*).

Репликация коронавируса SARS была изучена на мышах, сирийских золотистых и китайских хомячках. Наиболее тяжелые симптомы ОРВИ наблюдались у взрослых животных. Коронавирус SARS-CoV-2 реплицировался в сирийских золотистых хомячках, хорьках. Исследования показали, что мыши, морские свинки и хомяки не подвержены экспериментальному заражению коронавирусом MERS, главным образом потому, что их гомологичные молекулы DPP4 не функционируют в качестве рецепторов для проникновения этого вируса (Cockrell et al., 2014). Первая модель мышинной инфекции MERS, о которой было сообщено в 2014 году, включала интраназальное ко-инфицирование животных рекомбинантным аденовирусом 5, кодирующим человеческие молекулы DPP4 (hDPP4), и это привело к репликации MERS в легких. Эта модель мыши также показала клинические симптомы интерстициальной пневмонии, включая инфильтрацию воспалительных клеток и отек.

### **Коронавирусы свиней**

В настоящее время шесть видов коронавирусов циркулируют у свиней, включая:

- 4 альфа-коронавируса: трансмиссивный вирус гастроэнтерита свиней (transmissible gastroenteritis virus of swine, TGEV), его дериват – респираторный коронавирус свиней (porcine respiratory coronavirus, PR-CoV), вирус эпидемической диареи свиньи (porcine epidemic diarrhoea virus, PEDV) и вирус острой диареи свиней (Swine acute diarrhoea syndrome coronavirus, SADS-CoV);

- 1 бета-коронавирус – вирус гемагглютинирующего энцефаломиелита свиней (porcine haemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV);

- 1 дельта-коронавирус – дельтакоронавирус свиней (porcine deltacoronavirus, PD-CoV).

Коронавирусы TGEV, PEDV, SADS-CoV and PD-CoV ответственны за острый гастроэнтерит у свиней с высоким уровнем летальности для поросят, рожденных от серонегативных свиноматок, PR-CoV вызывает респираторное заболевание средней степени тяжести, PHEV является возбудителем неврологического и/или кишечного заболевания у свиней.

TGEV был впервые описан в Великобритании в 1950-х годах, и представляет собой самый известный коронавирус свиней. PEDV, скорее всего, попал в популяцию свиней в 1970-х годах от летучих мышей. Вирус был впервые описан в Европе и в основном поддерживался как эндемичный патоген в европейских и азиатских популяциях свиней, в Северную Америку был завезен в 2013 году. PEDV и BtCoV/512/2005, вероятно, имеют общего эволюционного предшественника (Banerjee et al., 2019).

Было проведено несколько исследований для оценки циркуляции коронавирусов у домашних и диких кабанов (*Sus scrofa*). Антитела против TGEV/PR-CoV были обнаружены у



некоторых животных в Словении (Vengust et al., 2006) и Хорватии (Roic et al., 2012), а РНК вируса PEDV была обнаружена у свиней в Южной Корее (Lee et al., 2016). Установлено, что свиньи подвержены экспериментальному заражению бета-коронавирусом MERS (Vergara-Alert et al., 2017), а РНК вируса SARS была обнаружена у свиней и диких кабанов (Chen et al., 2005; Wang и др., 2005). Зарегистрировано обнаружение РНК вируса SARS у кабана на животноводческом рынке Гуанчжоу, Китай (Wang et al., 2005). Недавние исследования показали, что свиньи не восприимчивы к экспериментальному заражению SARS-CoV-2 (Shi et al., 2020).

### **Коронавирусы жвачных**

Жвачные (лат. *Ruminantia*; от лат. *Rūma* – рубец, первый отдел желудка жвачных) – подотряд парнокопытных млекопитающих, содержащий шесть семейств: *Antilocapridae*, *Giraffidae*, *Moschidae*, *Cervidae*, *Tragulidae*, *Bovidae*

(<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D0%B2%D0%B0%D1%87%D0%BD%D1%8B%D0%B5>).

Самым ранним и известным коронавирусом жвачных является Betacoronavirus-1 (подрод *Embecovirus*, род *Betacoronavirus*). Этот вирус способен вызывать различные клинические формы болезни, в том числе кишечные заболевания с высоким уровнем смертности у новорожденных телят и у кормящих коров (Decaro et al., 2008b), а также респираторное заболевание, также известное как «респираторная болезнь КРС» или «лихорадка судорожного типа» (Bovine respiratory disease, BRD, «shipping fever»), которая наиболее часто поражает 2-3-х месячных телят (Decaro et al., 2008a).

Есть предположение, что коронавирусы жвачных произошли от коронавирусов грызунов (Corman et al., 2018). Совсем недавно был открыт новый вид вируса – *China Rattus coronavirus HKU24* (ChRCoV HKU24), он был обнаружен у норвежских крыс (*Rattus norvegicus*) в Китае. Этот вирус филогенетически отличается от MHV и человеческого коронавируса HKU1, но близок к геному штаммов, занимающих промежуточное положение между Betacoronavirus-1 и MHV. Предполагается, что ChRCoV HKU24 может представлять собой вероятного предка рода *Embecovirus* (Lau et al., 2015).

Betacoronavirus-1 является ярким примером того, как коронавирусы могут преодолевать межвидовые барьеры, адаптируясь к респираторному и/или кишечному тракту человека (OC43), свиньи (PHEV), лошади (лошадиный коронавирус, E-CoV) и собаки (коронавирус респираторного тракта собаки, CR-CoV). Ряд вирусов, которые раньше считались отдельными видами и выявлялись в кишечнике и/или дыхательных путях домашних и диких животных, в настоящее время включены в уникальный вид Бетакоронавирус-1. Это были вирусы овец и коз (Reinhardt et al., 1995; Yang et al., 2008), буйволов – *Bubalus bubalis* (Decaro et al., 2008c), лам – *Lama lama* и альпак – *Vicugna pacos* (Cebra et al., 2003; Jin et al., 2007), у шести видов семейства *Cervidae* – карибу/северный олень (*Rangifer tarandus caribou*), лось/вапити (*Cervus elephus*), олень самбар (*Cervus unicolor*), белохвостый олень (*Odocoileus virginianus*), пятнистый олень (*Cervus nippon yesoensis*) и водный олень (*Hydropotes inermis*) (Amer, 2018). Было также обнаружено, что подобные вирусы циркулируют в таких видах, как жираф – *Giraffa camelopardalis* (Hasoksuz et al., 2007), зубр – *Bison bonasus*, гималайский тар – *Hemitragus jemlahicus* (Chung et al., 2011), нескольких видах антилоп ((Alekseev et al., 2008; Chung et al., 2011), верблюд – *Camelus dromedarius* (Woo et al., 2014). Последний штамм этого вируса обнаружен в Объединенных Арабских Эмиратах и назван

коронавирусом дромадер верблюжьем UAE-HKU-23 (dromedary camel coronavirus, DcCoV UAEHKU23) (Woo et al., 2014).

Верблюды-дромадеры считаются естественным хозяином MERS, заболевание у них проявляется как заболевания верхних дыхательных путей, часто течет бессимптомно. У взрослых животных во многих странах на Ближнем Востоке, а также на севере и востоке Африки в более чем 90% случаев находят антитела к коронавирусу (Hemida et al., 2017b). В одном из недавних исследований ближайший генетический родственник коронавируса человека 229E был обнаружен в дыхательных путях верблюдов из Саудовской Аравии (Sabir et al., 2016). Хотя некоторые исследования исключили подверженность других домашних жвачных животных вирусу MERS (Reusken et al., 2013; Adney et al., 2016), недавние исследования выявляют специфические антитела и РНК в сыворотке и назальном секрете, соответственно, у домашних жвачных в Африке, в том числе овец, коз и крупного рогатого скота (Kandeil et al., 2019). Ламы были признаны восприимчивыми к экспериментальному заражению вирусом MERS (Vergara-Alert и др., 2017).

### **Коронавирус лошадей**

Единственный коронавирус, который до сих пор был известен у лошадей, это ECoV, являющийся потомком бета-коронавируса (подрод *Embecovirus*). ECoV был впервые выделен из кала лошадей с клиническими проявлениями диареи в 1999 году (ECoV-NC99) в Северной Каролине, США (Guy et al., 2000), и первоначально считалось, что он вызывает заболевание только у жеребят. С 2010 года вирус был выявлен в Японии, Европе и США как новый, эпидемически значимый кишечный вирус взрослых лошадей (Pusterla et al., 2018).

Несмотря на то, что вирус MERS был успешно адаптирован к росту *in vitro* в культуре клеток лошади (Meyer et al., 2015), серологические и молекулярные исследования показали, что лошади естественным путем не заражаются коронавирусом MERS (Meyer et al., 2015; Hemida et al., 2017a) и не подвержены экспериментальной инфекции (Adney et al., 2016; Vergara-Alert и др., 2017). Однако неожиданно РНК вируса MERS была обнаружена в респираторных образцах трех ослов в Египте (Kandeil et al., 2019), факт, который требует дальнейшего подтверждения. Молекулярные исследования с целью оценки циркуляции коронавирусов у лошадей в Саудовской Аравии и Омане обнаружили два штамма Dc-CoV UAE-HKU23 в образцах из кишечника лошадей (Hemida et al., 2017a). Имеются скудные данные о циркуляции коронавирусов у ослов, положительные результаты ОТ-ПЦР были получены от осла в Ирландии (Nemoto et al., 2019).

### **Коронавирусы плотоядных**

Три вида коронавирусов выявлены у собак: два альфа-коронавируса подрода *Tegacovirus*, а именно CCoV-I и CCoV-II, и один бета-коронавирус подрода *Embecovirus*, а именно CR-CoV. CCoV обычно ответственны за мягкий, самоограничивающийся энтерит у щенков (Decaro и Buonavoglia, 2008). Хотя два независимых исследования продемонстрировали их причастность к острому энтериту у собак (Duijvestijn et al., 2016; Dowgier и др., 2017). CCoV-II, вероятно, возник как

следствие рекомбинации между ССoV-I и неизвестным коронавирусом, в гене S которого произошла потеря ORF3 (Lorusso et al., 2008).

У кошек известны два генотипа Alphacoronavirus-1, а именно FCoV тип I (FCoV-I) и FCoV тип II (FCoV-II), причем последний произошел в результате рекомбинации между ССoV-II и FCoV-I (Pedersen, 2014). Оба генотипа вызывают развитие инфекционного перитонита у кошек и периваскулярный пиогранулематоз (Addie et al., 2009).

Об асимптоматическом носительстве SARS-CoV2 у кошек сообщали из ряда стран:

Бельгия (28 марта 2020 года);

США (22 апреля 2020 года);

Франция (2 мая 2020 года);

Испания (11 мая 2020 года);

Германия (13 мая 2020 года);

Россия (26 мая 2020 года);

Великобритания (28 июля 2020 года).

Известно, что инфекции выявлялись и в некоторых других странах (например, в Китае, Нидерландах). (Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. N Engl J Med. [online ahead of print 13 May 2020; Shi J, Wen Z, Zhong G, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. Science.2020; 368(6494): 1016-20; Gaudreault NN, Trujillo JD, Carossino M, et al. SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. <https://doi.org/10.1101/2020.08.04.235002>> (preprint, not been certified by peer review)).

Известны также 2 альфа-коронавируса, а именно коронавирус норки 1 (MCoV-1) и коронавирус хорьков (FR-CoV). MCoV-1 был недавно идентифицирован как этиологический агент эпизоотического катарального гастроэнтерита норки, инфекционной болезни американских (*Neovison vison*) и европейских (*Mustela lutreola*) норок, впервые описанной в 1975 году. (Larsen and Gorham, 1975) и вызывающей эпидемии среди норок в разных странах (Vlasova et al., 2011). Заболевание наблюдается у животных возрастом более 4 месяцев и характеризуется сезонностью, высоким уровнем заболеваемости (приближается к 100%) и низкой смертностью (<5%). В настоящее время эти два вируса считаются отдельными видами в пределах подрода *Minacovirus* (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>).

Показана циркуляция коронавирусов у диких плотоядных: волков (*Canis lupus*), рыжих лисиц (*Vulpes vulpes*), выдр (*Lutra lutra*), генет (*Genetta genetta*) (Alfano et al., 2019; Rosa et al., 2020). ССoV-подобные вирусы были также обнаружены в африканских диких плотоядных: пятнистых гиенах (*Crocuta crocuta*) и шакалах (*Canis mesomelas*) (Goller et al., 2013). FCoVs имеют широкое распространение среди таких животных как сервал (*Felis serval*) (Juan-Salles et al., 1997), гепард (*Acinonyx jubatus*) (Kennedy et al., 2001b), пума (*Puma concolor*) (Stephenson et al., 2013) и европейская дикая кошка (*Felis silvestris*) (Watt et al., 1993).

Альфа-коронавирусы-1 были обнаружены у китайского барсука (*Melogale moschata*) и енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides*) (Dong et al., 2007). В этом же исследовании сообщается об обнаружении в Азии неклассифицированного коронавируса у леопардового кота (*Prionailurus bengalensis*) и китайского барсука. Этот вирус имел высокий процент гомологии с

гамма-коронавирусами в большинстве частей генома, тогда как ген S показал высокую идентичность последовательности с альфа-коронавирусами (Dong et al., 2007). С обнаружением и выделением в отдельный род дельта-коронавирусов, эти вирусы были позже включены в этот новый род наряду со штаммами птиц и свиней (Woo et al., 2009; Wang et al., 2014).

Обнаружено, что SARS-подобные штаммы коронавируса широко распространены у цивет – *Paguma larvata* и енотовидных собак – *Nyctereutes procyonoides* (Guan et al., 2003). Полногеномный сравнительный анализ показал, что коронавирусы, выделенные из пальмовых цивет, имеют высокий процент гомологии со штаммами вируса SARS (Song et al., 2005). У китайского барсука (*Melogale moschata*) были обнаружены нейтрализующие антитела к коронавирусу SARS (Guan et al., 2003). Фрагменты РНК коронавируса SARS были обнаружены у кошек и рыжих лисиц (*Vulpes vulpes*). Показано, что SARS способен поражать кошек, хорьков и, в меньшей степени, собак (Shi et al., 2020).

### **Коронавирусы у других видов животных**

В 2008 году у умершей белухи (*Delphinapterus leucas*) с признаками пневмонии и некроза печени (Mihindukulasuriya et al., 2008) был обнаружен вирус, который в настоящее время является единственным видом коронавируса млекопитающих, принадлежащий к роду *Gammacoronavirus*, а именно коронавирус белухи SW1 (BW-CoV-SW1) (подрод *Cegacovirus*). Спустя несколько лет родственный гамма-коронавирус был выделен из образцов фекалий трех индо-тихоокеанских дельфинов-афалин (*Tursiops aduncus*), он был назван коронавирусом афалин (BdCoV) HKU22. Сравнительный анализ генома показал, что BdCoV-HKU22 и BWCoV-SW1 имеют сходные характеристики генома, и имеют очень близкие нуклеотидные последовательности, совпадающие друг с другом на 98% (Woo et al., 2014).

Новый бета-коронавирус обнаружен у ежей обыкновенных (*Erinaceus europaeus*) в Германии, Франции, Англии и Италии. Вирус предварительно называли Erinaceus CoV (EriCoV) (Corman et al., 2014b), идентичность геномов штаммов этого вируса у ежей, обитающих в разных странах, составляет от 92% до 98% (Monchatre-Leroy et al., 2017; Saldanha et al., 2019; Delogu и др., 2020). Вирус не был связан с какой-либо формой заболевания, так что ежи в дополнение к летучим мышам могут способствовать эволюции коронавирусов подрода *Merbecovirus* (Saldanha et al., 2019). Позже коронавирус HKU31 (EaHedCoV HKU31) был обнаружен у амурских ежей (*Erinaceus amurensis*) в Китае (Lau et al., 2019).

Новый коронавирус, названный Wénchéng shrew coronavirus (WESV), был обнаружен у землеройки (*Suncus murinus*) в Китае (Wang et al., 2017). WESV сильно отличается от других альфа-коронавирусов, сходство аминокислотных последовательностей с другими представителями рода *Alphacoronavirus* менее 71,1% и менее чем 61,3% сходства аминокислотной последовательности с представителями других родов коронавирусов.

### **Коронавирусы человека**

Коронавирусы человека распространены во всех странах мира и вызывают целый ряд респираторных симптомов. Эти инфекции часто протекают без клинических проявлений или

связаны с легкими или умеренными заболеваниями верхних дыхательных путей с молниеносным течением болезни у иммунодефицитных детей и взрослых (Konca et al., 2017; Mayer et al., 2016; Oosterhof et al., 2010; van der Noek, 2007). Человеческие коронавирусы в настоящее время являются второй после гриппа наиболее распространенной причиной ОРВИ. Коронавирусы могут привести к заболеваниям нижних дыхательных путей, включая бронхит и пневмонию, особенно у людей с ослабленным иммунитетом, младенцев и пожилых людей. Все коронавирусы человека могут быть обнаружены в образцах фекалий, но они не являются основной причиной гастроэнтерита (Esper et al., 2010; Paloniemi et al., 2015; Risku et al., 2010). Кроме этого, коронавирус OC43 может играть роль в развитии неврологических заболеваний, таких как хроническая демиелинизирующая болезнь и острый энцефаломиелит (Morforoulou et al., 2016; Murray et al., 1992; Yeh et al., 2004).



Рис. 10. Сводная диаграмма групп животных, представляющих собой естественных хозяев и предполагаемых промежуточных хозяев для шести коронавирусов, обнаруженных у людей (Corman V. M., Muth D., Niemeyer D., Drosten Ch. Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses //Advances in Virus Research, 2018, Vol. 100, p.163-188)

Расширение доступности методов молекулярной диагностики и более частое тестирование на множественные респираторные патогены предоставили возможность охарактеризовать схемы циркуляции отдельных коронавирусов человека.

Хотя коронавирусы человека распределены по всему миру, преобладающие виды могут варьироваться в зависимости от региона или года.

Самые ранние сообщения об эндемически значимых коронавирусах человека относятся к 1960-м годам, когда были описаны вирусы OC43 и 229E (Hamre and Procknow, 1966; McIntosh et al., 1967). Коронавирус 229E был впервые выделен в 1967 году.

В то время примерно у 35% людей простуду вызывали вирусы, которые ученые не могли идентифицировать. Д-р Дороти Хамре из Чикагского университета изучала культуры тканей простуженных студентов и в 1965 году обнаружила новый вид вируса, который позднее стал известен под названием HCoV-229E. В то же самое время в Великобритании группа ученых под руководством д-ра Дэвида Тиррелла вела аналогичное исследование. Им также удалось выделить новый тип вируса. Когда ученые исследовали его под электронным микроскопом, они обнаружили, что он имеет сходство с вирусом, выделенным еще в 1930-х годах из тканей страдающих бронхитом куриц. Это и был первый выявленный коронавирус человека.

Сегодня биологические исследования проводятся в условиях строгой изоляции и при соблюдении требований биобезопасности и биоэтики. Однако более полувека назад все было совсем по-другому: образцы, содержащие коронавирус, закапали в носоглотку 113 подопытным, добровольно согласившимся на участие в эксперименте. Один из них заболел простудой.

Коронавирусы OC43 и 229E вызывают 5–30% ОРВИ ежегодно, вспышки заболеваемости происходят с интервалом 3-4 года (Vallet S. et al., 2004).

Коронавирусы NL63 и HKU1 были обнаружены только в 2004 и 2005 годах (van der Hoek et al., 2004; Woo и др., 2005). Секвенирование показало, что геном коронавируса человека 229E только на 65% идентичен геному другого коронавируса – NL63.

По-видимому, все коронавирусы реплицируются в эпителиальных клетках респираторного и/или кишечного тракта. Коронавирусная инфекция, вызванная вирусами OC43 и 229E, сопровождается множеством клинических проявлений: от самоограничивающегося легкого простудного заболевания, характеризующегося кашлем, ринореей, лихорадкой до бронхитов, бронхиолитов и пневмоний (Falsey A.R. et al., 2002; Pene F. et al., 2003; Simon A. et al., 2007; Vabret A. et al., 2003).

Коронавирус NL63 был впервые выделен двумя независимыми группами исследователей в Нидерландах в 2003 году у 7-месячного ребенка, страдающего бронхитом и конъюнктивитом (Hamre and Procknow, 1966; van der Hoek et al., 2004). Вирус удалось размножить в клетках почки обезьяны. Коронавирусные инфекции, вызванные NL63, происходят преимущественно в зимние месяцы, с пиком в ноябре (Han T.H. et al., 2007). Наиболее часто коронавирусная инфекция, вызванная NL63, встречалась у детей в возрасте до 5 лет. Этот коронавирус NL63 вызывает респираторные заболевания средней степени тяжести, также может вызывать круп (Forster J. et al., 2004; van der Hoek L. et al., 2006). Коронавирус NL63 часто встречается в составе микст инфекций (Chiu S.S. et al., 2005; van der Hoek L. et al., 2006). Лечение коронавирусной инфекции, вызванной NL63, зависит от тяжести симптоматики: легкое и умеренное течение инфекции, как правило, не требуют сложной терапии. Симптомы болезни, как правило, становятся менее выраженными при приеме симптоматических препаратов. Интенсивное лечение может быть необходимо для пациентов, которые попадают в отделения интенсивной терапии из-за тяжелой респираторной инфекции. Последние данные свидетельствуют о том, что возможно осложнение NL63-инфекции болезнью Кавасаки, системным васкулитом в детском возрасте, и это может привести к аневризму коронарных артерий. Болезнь Кавасаки является наиболее частой причиной приобретенной болезни сердца у детей. NL63 также был найден в желудочно-кишечном тракте инфицированных лиц, хотя роль вируса NL63 в развитии гастроэнтерита не доказана из-за наличия коинфекции другими вирусами.

Коронавирус НКУ1 был обнаружен в 2004 году в Гонконге (Woo P.C. et al., 2005). Выделяют три генотипа коронавируса НКУ1 – А, В и С; и согласно ряду исследований преобладающими являются генотипы А и В (Gerna G. et al., 2007; Sloots T.P. et al., 2005). Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом НКУ1, характеризуется ринореей, кашлем, лихорадкой, свистящим дыханием (Esper F. et al., 2006), может приводить к таким заболеваниям как бронхиты, ларингиты, бронхиолиты и пневмониям, а также обострению астмы (Mahony J.B. et al., 2007).

По данным Всемирной организации здравоохранения в мире регистрируется около 450 миллионов случаев пневмонии в год, что приводит к 4 миллионам смертей. Примерно 200 миллионов всех случаев – это вирусные внебольничные пневмонии, которые вызываются респираторно-синцитиальным вирусом, риновирусами, вирусами гриппа, вирусами парагриппа человека, коронавирусами, метапневмовирусами, бокавирусами и некоторыми энтеровирусами. Коинфекции двумя или более возбудителями и сопутствующие заболевания часто усложняют первоначальный диагноз и влияют на тяжесть и прогноз заболевания.

Коронавирусы часто встречаются как коинфекция.

Таблица 2. Микст-инфекции с коронавирусами (Killerby ME, Biggs HM, Haynes A, et al. Human coronavirus circulation in the United States 2014-2017. *J Clin Virol.* 2018;101:52-56. doi:10.1016/j.jcv.2018.01.019)

	Коронавирусы человека				ПГ	РСВ	МПВ	Адено	РВ/ЭВ	Грипп А	Грипп В	Другие
	ОС43	NL63	229E	НКУ1								
Количество случаев заболевания / процент от общего числа												
<b>ОС43</b>	836 (100)	8 (1.0)	8 (1.0)	4 (0.5)	28 (3.3)	100 (12.0)	23 (2.8)	54 (6.5)	59 (7.1)	44 (5.3)	10 (1.2)	259 (31.0)
<b>NL63</b>	8 (3.2)	253 (100)	3 (1.2)	5 (2.0)	5 (2.0)	26 (10.3)	10 (4.0)	13 (5.1)	19 (7.5)	11 (4.3)	0 (0.0)	74 (29.2)
<b>229E</b>	8 (2.5)	3 (0.9)	325 (100)	0 (0.0)	16 (4.9)	21 (6.5)	9 (2.8)	11 (3.4)	11 (3.4)	27 (8.3)	5 (1.5)	89 (27.4)
<b>НКУ1</b>	4 (2.6)	5 (3.3)	0 (0.0)	151 (100)	5 (3.3)	21 (13.9)	5 (3.3)	10 (6.6)	13 (8.6)	8 (5.3)	2 (1.3)	53 (35.1)
<b>Все корона вирусы человека</b>	836 (54.4)	253 (16.4)	325 (21.1)	151 (9.8)	54 (3.5)	164 (10.7)	47 (3.1)	86 (5.6)	101 (6.6)	87 (5.7)	17 (1.1)	465 (30.2)

ПГ – парагрипп человека

РСВ – респираторно-синцитиальный вирус

МПВ – человеческий метапневмовирус

Адено – аденовирус

РВ/ЭВ – риновирус/энтеровирусы

Долгосрочное системное исследование провели в США, собирая данные о респираторных заболеваниях в семьях с детьми в районе города Анн-Арбор, Мичиган (Arnold S Monto, Peter M DeJonge, Amy P Callear, Latifa A Bazzi, Skylar B Capriola, Ryan E Malosh, Emily T Martin, Joshua G Petrie, Coronavirus Occurrence and Transmission Over 8 Years in the HIVE Cohort of Households in Michigan, *The Journal of Infectious Diseases*, , jiaa161, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa161>). Постоянно, в течение 10 лет, от 890 до 1441 человека в год из нескольких сотен домохозяйств принимали участие в исследовании. В 2010 году было начато отслеживание появления четырех коронавирусов человека (OC43, 229E, HKU1 и NL63). Ученые изучили частоту, сезонность и характеристики передачи в домохозяйствах 993 случаев инфекций, вызванных этими коронавирусами. Обращения к врачам потребовалось примерно в 30% случаев: примерно 9% у взрослых и около 20% – у детей. Исследование проводилось непрерывно круглогодично, большинство случаев коронавируса было выявлено в период с декабря по апрель/май и достигало пика в январе/феврале. Только 2,5% случаев произошли с июня по сентябрь. Наибольшая частота заражения была у детей в возрасте до пяти лет.

Из 993 случаев инфицирования в 260 заражение происходило от проживающих совместно родных. Промежуток между первым больным в семье и случаями передачи между членами этой семьи (серийный интервал) колебался в диапазоне 3,2-3,6 дня; риск повторного заражения варьировал от 7,2% до 12,6%. Тяжелые случаи с большей вероятностью приходились на детей младше пяти лет и взрослых старшего возраста (50 лет и старше). Arnold S Monto, Peter M DeJonge, Amy P Callear, Latifa A Bazzi, Skylar B Capriola, Ryan E Malosh, Emily T Martin, Joshua G Petrie, Coronavirus Occurrence and Transmission Over 8 Years in the HIVE Cohort of Households in Michigan, *The Journal of Infectious Diseases*, , jiaa161, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa161>



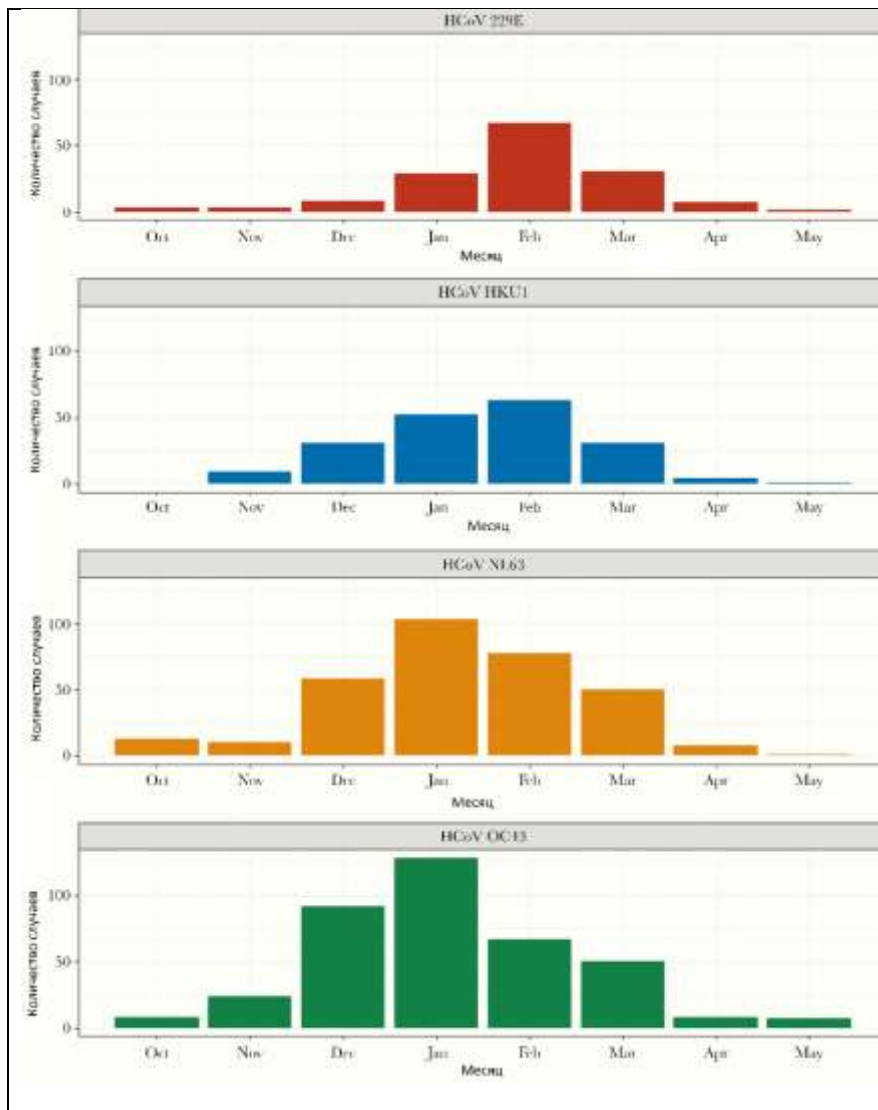


Рис. 10. Периоды регистрации случаев коронавирусной инфекции, 2010–2018 годы

(Arnold S Monto, Peter M DeJonge, Amy P Callear, Latifa A Bazzi, Skylar B Capriola, Ryan E Malosh, Emily T Martin, Joshua G Petrie, Coronavirus Occurrence and Transmission Over 8 Years in the HIVE Cohort of Households in Michigan, *The Journal of Infectious Diseases*, , jiaa161, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa161>

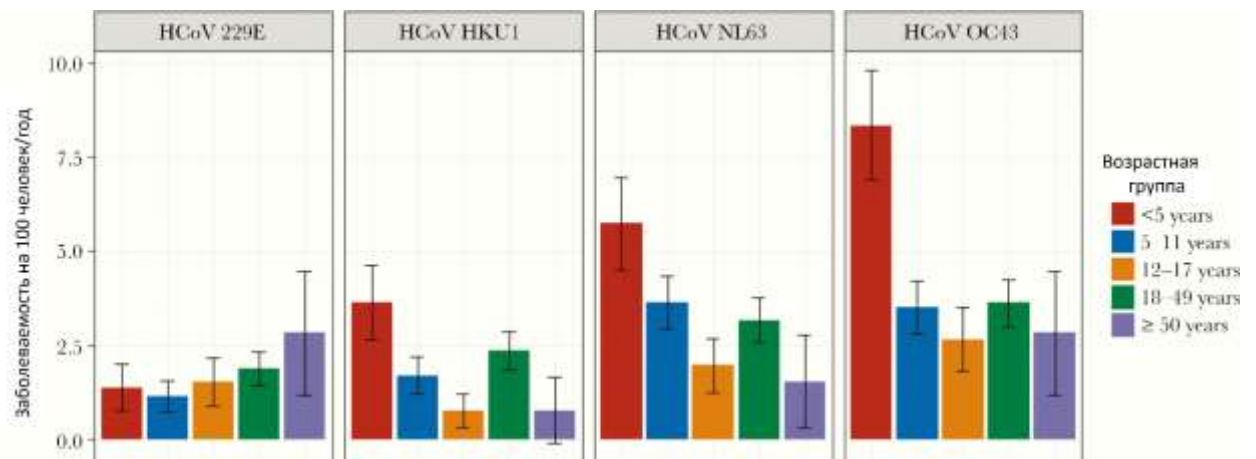


Рис. 11. Заболеваемость коронавирусными инфекциями на 100 человек/год, 2010–2018 годы. Ошибка представлена с 95%-ным доверительным интервалом

(Arnold S Monto, Peter M DeJonge, Amy P Callear, Latifa A Bazzi, Skylar B Capriola, Ryan E Malosh, Emily T Martin, Joshua G Petrie, Coronavirus Occurrence and Transmission Over 8 Years in the HIVE Cohort of Households in Michigan, *The Journal of Infectious Diseases*, , jiaa161, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa161>

В другом исследовании была изучена циркуляция коронавируса человека в США в 2014-2017 годах, оно подтвердило периодичность и сезонность заболевания, а также высокий процент коронавирусной инфекции в общем количестве заболеваний ОРВИ.

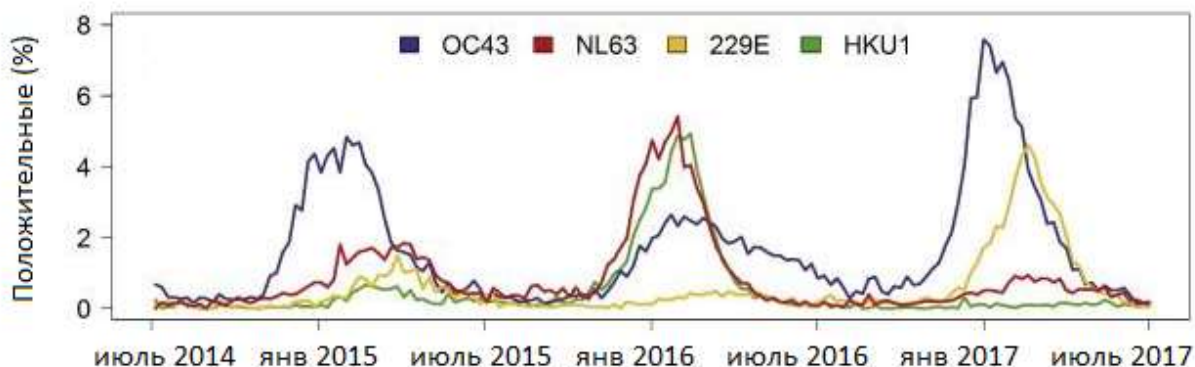


Рис. 12. Процент положительных тестов на HCoV-OC43, -NL63, -229E и -HKU1 в США по неделям за период с июля 2014 года по июнь 2017 года. (Killerby ME, Biggs HM, Haynes A, et al. Human coronavirus circulation in the United States 2014-2017. *J Clin Virol.* 2018;101:52-56. doi:10.1016/j.jcv.2018.01.019)

### Заболееваемость тяжелым острым респираторным синдромом (ТОРС, SARS)

В ноябре 2002 года в городе Фошань, провинция Гуандун, Китай, были зарегистрированы необычные случаи «атипичной пневмонии» с неизвестной причиной заболевания, при котором заразились многие медицинские работники (Zhao Z, Zhang F, Xu M, et al. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China. *J Med Microbiol* 2003; 52:715–20). Через заразившегося там врача, который наблюдал за случаями непонятной пневмонии на материковом Китае, инфекция 21 февраля 2003 года была завезена в Гонконг, где стала распространяться и привела к последующим вспышкам тяжелой пневмонии, названной ВОЗ 15 марта 2003 года как *severe acute respiratory syndrome*, тяжелый острый респираторный синдром (SARS, ТОРС). К 22 марта 2003 года было выяснено, что заболевание вызвал новый коронавирус. Вирус был завезен в 31 страну мира, но история эпидемии атипичной пневмонии была короткой, и ВОЗ объявила о прекращении эпидемии атипичной пневмонии уже в июле 2003 года.

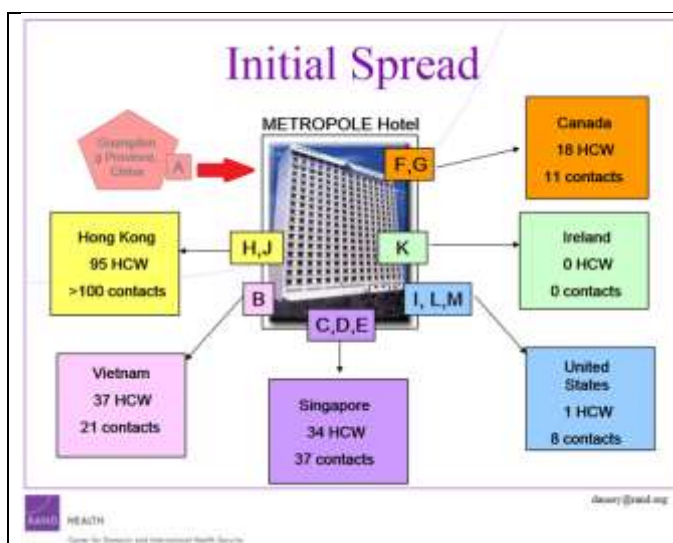


Рис. 13. 26-летний посетитель, который останавливался на 9-м этаже отеля M, был принят 4 марта 2003 года в больницу общего профиля 8А с лихорадкой и пневмонией. Контакты с ним в течение 2 недель привели к заболеванию 138 человек (включая работников здравоохранения). Причиной этого послужили переполненные медицинские палаты в больнице, неадекватные меры защиты медперсонала, система вентиляции в больничной палате, не отвечающая степени угрозы от зараженного

коронавирусом SARS и др.

Вирус SARS был обнаружен в секретах дыхательных путей, моче, фекалиях и выделениях из слезных желез зараженных SARS-инфекцией. Анализ пространственно-временного распространения инфекции SARS-CoV среди пациентов стационарного отделения 8А в сочетании с исследованием потоков привело к заключению, что заражение произошло при передаче вируса по воздуху. Многофакторный анализ смоделированных 1744 сценариев распространения коронавируса помог обнаружить, что SARS, скорее всего, распространялся в основном воздушно-капельным путем, в то время как фомиты играли несущественную роль в передаче (Xiao S, Li Y, Wong TW, et al. Role of fomites in SARS transmission during the largest hospital outbreak in Hong Kong. PLoS One 2017;12(7):e0181558.).

**Фомиты** (англ. *fomites*) – любые предметы, контаминированные патогенными микроорганизмами или паразитами, при соприкосновении с которыми возникает риск заражения. Типичными фомитами являются одежда, поверхность кожи, волосы, а также постельные принадлежности в медицинских учреждениях. Гладкие (непористые) поверхности (например, дверные ручки) передают бактерии и вирусы лучше, чем пористые (например, бумажные купюры). (<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D1%82%D1%8B>)

Вирус был обнаружен в высоких концентрациях в мокроте (до 100 миллионов на миллилитр) и в более низких концентрациях в крови и фекалиях во время острой фазы. В среднем вирусная нагрузка достигала максимума на 10-й день и снижалась на 15-й день после заражения (Peiris JSM, Chu CM, Cheng VCC et al. Prospective study of the clinical progression and viral load of SARS associated coronavirus pneumonia in a community outbreak (accepted in Lancet and available at: <http://www.who.int>)). Клиническая характеристика заболевания средней тяжести протекания проявлялась в поражении верхних и нижних дыхательных путей, регистрировались симптомы респираторного заболевания: лихорадка, сухой кашель, одышка и гипоксия. В нижних отделах легких на рентгенограммах грудной клетки и КТ были видны интерстициальные паттерны. Характеристика поражений на КТ – двусторонняя пневмония с характерным поражением «матовое стекло», имитирующим облитерирующий бронхолит, переходящий в пневмонию (Lee N, Hui D, Wu A et al. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. N Engl J Med 2003; 348:1986–94; Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med. 2003; 348:1953–66.). Гистологическое исследование легочной ткани от летальных случаев показывала диффузное альвеолярное повреждение, подобное тому, которое наблюдается в ранней фазе острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Патологические изменения включали пролиферацию эпителиальных клеток, наличие гигантских клеточных инфильтратов и увеличение количества легочных макрофагов. Гемофагоцитоз, подтверждающий процесс дисрегуляция цитокинов, был продемонстрирован у многих пациентов.

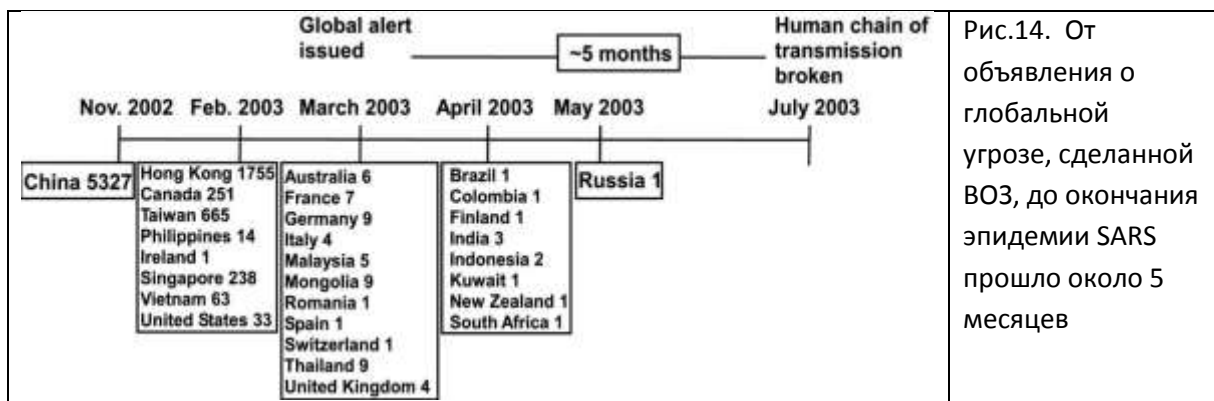


Рис.14. От объявления о глобальной угрозе, сделанной ВОЗ, до окончания эпидемии SARS прошло около 5 месяцев

В связи с отсутствием новых случаев инфицирования (прошло 3 недели) 9 мая 2003 года ВОЗ объявила Китай свободной от атипичной пневмонии. Эпидемия коронавирусной инфекции, вызванной SARS, была завершена.

В последующие годы ни одного случая заражения ТОРС-коронавирусом в мире зарегистрировано не было.

### **Ситуация с ближневосточным респираторным синдромом (БВРС, MERS)**

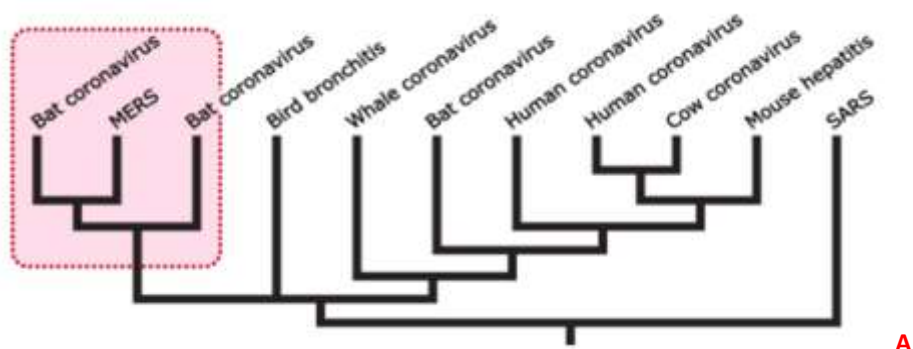
Коронавирус, вызывающий заболевание ближневосточный респираторный синдром (MERS), относится к роду *Betacoronavirus* семейства *Coronaviridae* и генетически близок к коронавирусам летучих мышей HKU4 и HKU5. Исследования генома БВРС-коронавируса (MERS) и сравнение его с коронавирусами, выделенными из образцов, взятых у верблюдов и летучих мышей, показало, что переход от летучих мышей к верблюдам мог произойти в период с 2007 до 2010 года. Первые случаи заболевания были выявлены в июне 2012 года. Первое сообщение о БВРС-коронавирусе (MERS) датировано 15 сентября 2012 года, когда в информационной системе ProMED было сообщено о выявлении этого вируса в образцах от пациента из Саудовской Аравии, умершего в июле 2012 года.

Эпидемия коронавирусной инфекции, вызванной БВРС-коронавирусом (MERS), была зарегистрирована в 2012 году и продолжается до настоящего времени. С 2012 года случаи MERS за пределами Ближнего Востока были зарегистрированы на всех континентах и были связаны с поездками на Ближний Восток. Большинство случаев заражения регистрируется в Саудовской Аравии – 80% от всех случаев заболевания людей.

Случаи внутрибольничного заражения составляют примерно 40%; эти случаи произошли в Саудовской Аравии, Объединенных Арабских Эмиратах (ОАЭ) и Республике Корея. Самая крупная вспышка заболевания за пределами Аравийского полуострова произошла в Республике Корея, она привела к 186 подтвержденным случаям ближневосточного респираторного синдрома с 38 смертельными исходами. Это произошло после возвращения корейского туриста из турне по странам Аравийского полуострова – Катар, ОАЭ, Саудовская Аравия и Бахрейн, после которого он заболел респираторным заболеванием и посетил несколько больниц до окончательного установления 20 мая 2015 года диагноза в медицинском центре Samsung. В результате 186 человек, в том числе 25 медработников, были заражены, 181 из 186 случаев были связаны с внутрибольничной передачей вируса MERS. Эта вспышка ясно продемонстрировала эпидемический потенциал БВРС-коронавируса MERS, распространяющегося от человека к человеку.

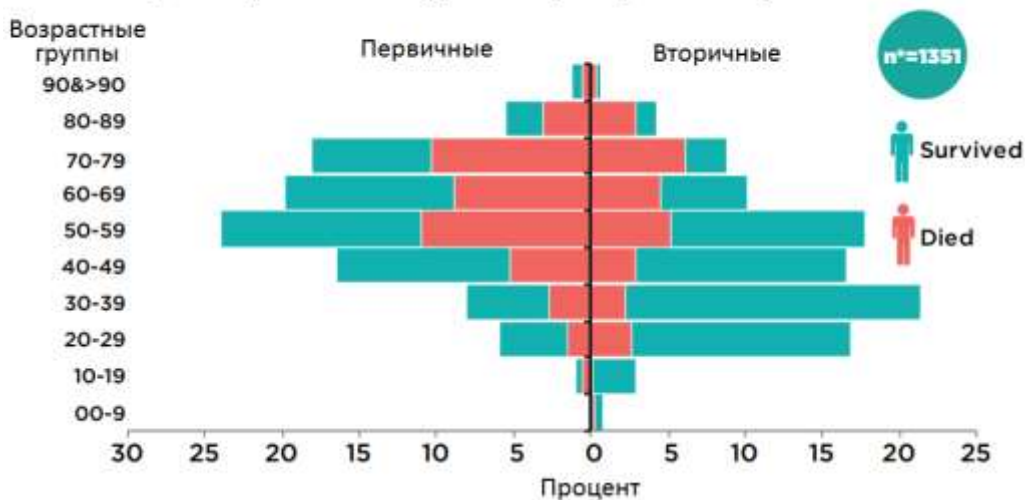
К 20 августа 2020 года двадцать семь стран сообщили о случаях MERS, при этом большая часть стран находится на Аравийском полуострове или около него, это Бахрейн, Иран, Иордания, Кувейт, Ливан, Оман, Катар, Саудовская Аравия, ОАЭ и Йемен. Случаи, выявленные за пределами Ближнего Востока, обычно происходят у путешественников, которые были заражены на Ближнем Востоке, а затем вернулись в свои страны – это Алжир, Австрия, Китай, Египет, Франция, Германия, Греция, Италия, Малайзия, Нидерланды, Филиппины, Республика Корея, Таиланд, Тунис, Турция, Соединенное Королевство и Соединенные Штаты (Esam I. Azhar, David S.C. Hui, Ziad A. Memish, Christian Drosten,

К июлю 2020 года заболевание с ближневосточным респираторным синдромом было зарегистрировано почти у 2500 человек (в том числе 861 связанных с ним смертей, коэффициент летальности – 34,5%); большинство из этих случаев были зарегистрированы в Саудовской Аравии (2102 случая, в том числе 780 связанных смертей, с коэффициентом летальности 37,1%). Демографические и эпидемиологические характеристики зарегистрированных за период наблюдения с начала эпидемии случаев не показывают каких-либо существенных различий или изменений. Возрастная группа 50-59 лет продолжает подвергаться наибольшему риску первичного заражения. Возрастная группа 30-39 лет наиболее подвержена риску вторичного заражения. Количество смертей выше в возрастной группе 50-59 лет для первичных случаев, и в возрастной группе 70-79 лет – для вторичных случаев. (World Health Organization 2019. Some rights reserved. This work is available under the Creative Commons Attribution-Non Commercial-Share Alike 3.0 IGO license (CC BY-NC-SA 3.0 IGO); <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>). Document no. WHO-EM/CSR/241/E).



A

Заболееаемость в группах при регистрации первичных и вторичных случаев заражения в Саудовской Аравии, 2012- ноябрь 2019



B

Случаи заболевания	Год								
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	ВСЕГО
Первичные	3	36	164	52	75	70	54	56	510

Вторичные	2	93	264	222	60	90	35	75	<b>841</b>
Смешанные		1	15	102	103	68	52	58	<b>399</b>
Неизвестные		28	219	78	11	5	1	10	<b>352</b>
<b>ВСЕГО</b>	<b>5</b>	<b>158</b>	<b>662</b>	<b>454</b>	<b>249</b>	<b>233</b>	<b>142</b>	<b>199</b>	<b>2102</b>

Рис. 15. БВРС-Коронавирус (MERS) А) Филогенетические родственные связи БВРС-коронавируса (MERS), Б) взаимосвязи между возрастом, числом и тяжестью заболевания и таблица заболеваемости в Саудовской Аравии по годам (World Health Organization 2019. Some rights reserved. This work is available under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 3.0 IGO license (CC BY-NC-SA 3.0 IGO; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>). (Document no. WHO-EM/CSR/241/E)

### Ситуация с заболеваемостью COVID-19

В ноябре-декабре 2019 года из Китая начали поступать сообщения о случаях респираторного заболевания неизвестной этиологии среди жителей города Ухань, административного центра провинции Хубэй. ВОЗ для обозначения агента, вызвавшего вспышку заболевания, сначала использовала термин «новый коронавирус 2019» (NCoV-19). Впоследствии было показано, что новый коронавирус является ближайшим родственником коронавируса SARS-CoV-1 (гомология около 80%), вызвавшего эпидемию так называемой «атипичной пневмонии» в 2003 году. Научная группа Международного комитета по Таксономии Вирусов 11 февраля 2020 года присвоила вирусу новое имя – SARS-CoV-2 (Guo, Y.R., Cao, Q.D., Hong, Z.S., Tan, Y.Y., Chen, S.D., Jin, H.J., Tan, K.S., Wang, D.Y., Yan, Y., 2020. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Military Medical Research* 7 (1), 1–10). Соответственно, ВОЗ дала новое название болезни, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2 – COVID-19 (CoronaVirus Disease) (World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report –64[EB/OL].[2020-03-24]. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200324-sitrep-64-covid-19.pdf?sfvrsn=703b2c40\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200324-sitrep-64-covid-19.pdf?sfvrsn=703b2c40_2)). Молекулярно-генетический анализ выявил наибольшую гомологию генома вируса SARS-CoV-2 с двумя коронавирусами летучих мышей и частью генома коронавируса панголинов. Экстренные эпидемиологические расследования связали появление нового коронавируса с оптовым рынком Huanan Seafood и указали на его зоонозное происхождение (ovel, C.P.E.R.E., 2020. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. *Zhonghua liu xing bing xue za zhi= Zhonghua liuxingbingxue zazhi* 41 (2), 145.; Perlman, 2020; European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2020. Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Increased Transmission Beyond China—Fourth Update (PDF, 14th February); World Health Organization (WHO), 2020a. WHO Director-General’s Opening Remarks at the Media Briefing on COVID-19—11 March 2020. (11 March)). Заболевание стремительно распространилось по миру и уже через 8 месяцев регистрировалось в более чем 180 странах, число заболевших к 20 августа 2020 года превысило 22 миллиона человек, а умерших – 780 тысяч. При этом в России заболело более 930 тысяч человек и более 15 тысяч заболеваний окончились летальным исходом. Эволюционные генетические исследования показали, что попадание вируса от животных (возможно, летучих мышей) к людям, произошло в ноябре или в начале декабря 2019 года.

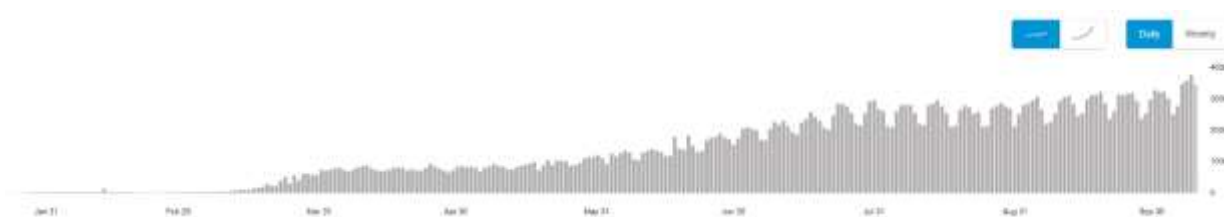


Рис. 16. Эпидемическая динамика ежедневного выявления новых больных COVID-19 в мире ( )

Распределение летальности по возрастам, %											
Возраст	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90+	
Канада, на 29 апреля <sup>[127]</sup>	0.0		0.2		0.6		5.5		17.3		
Китай, на 11 февраля <sup>[128]</sup>	0.0	0.2	0.2	0.2	0.4	1.3	3.6	8.0	14.8		
Дания, на 30 апреля <sup>[129]</sup>	0.2						4.5	15.9	24.8	39.9	
Германия, на 4 мая <sup>[130]</sup>	0.1	0.0	0.1		1.6		17.2		26.7		
Израиль, на 30 апреля <sup>[131]</sup>	0.0	0.0	0.5	0.5	1.4	2.8	9.3	24.5	33.3	27.3	
Италия, на 28 апреля <sup>[132]</sup>	0.1	0.0	0.1	0.3	0.9	2.6	9.8	24.2	29.0	24.7	
Нидерланды, на 25 апреля <sup>[133]</sup>	0.0	0.3	0.1	0.2	0.5	1.5	7.6	23.2	30.0	29.3	
Португалия, на 28 апреля <sup>[134]</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.7	3.0	8.7	17.2		
Южная Корея, на 30 апреля <sup>[135]</sup>	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.8	2.6	10.4	24.3		
Испания, на 29 апреля <sup>[136]</sup>	0.3	0.4	0.2	0.3	0.6	1.4	4.7	13.7	20.8	21.6	
Швеция, на 26 апреля <sup>[137]</sup>	0.0	0.0	0.4	0.4	1.0	2.3	6.9	21.2	30.0	34.0	
Швейцария, на 30 апреля <sup>[138]</sup>	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.5	2.8	10.5	25.2		
Вашингтон, США, на 25 апреля <sup>[139]</sup>	0.0		0.2		1.3		8.9		29.9		

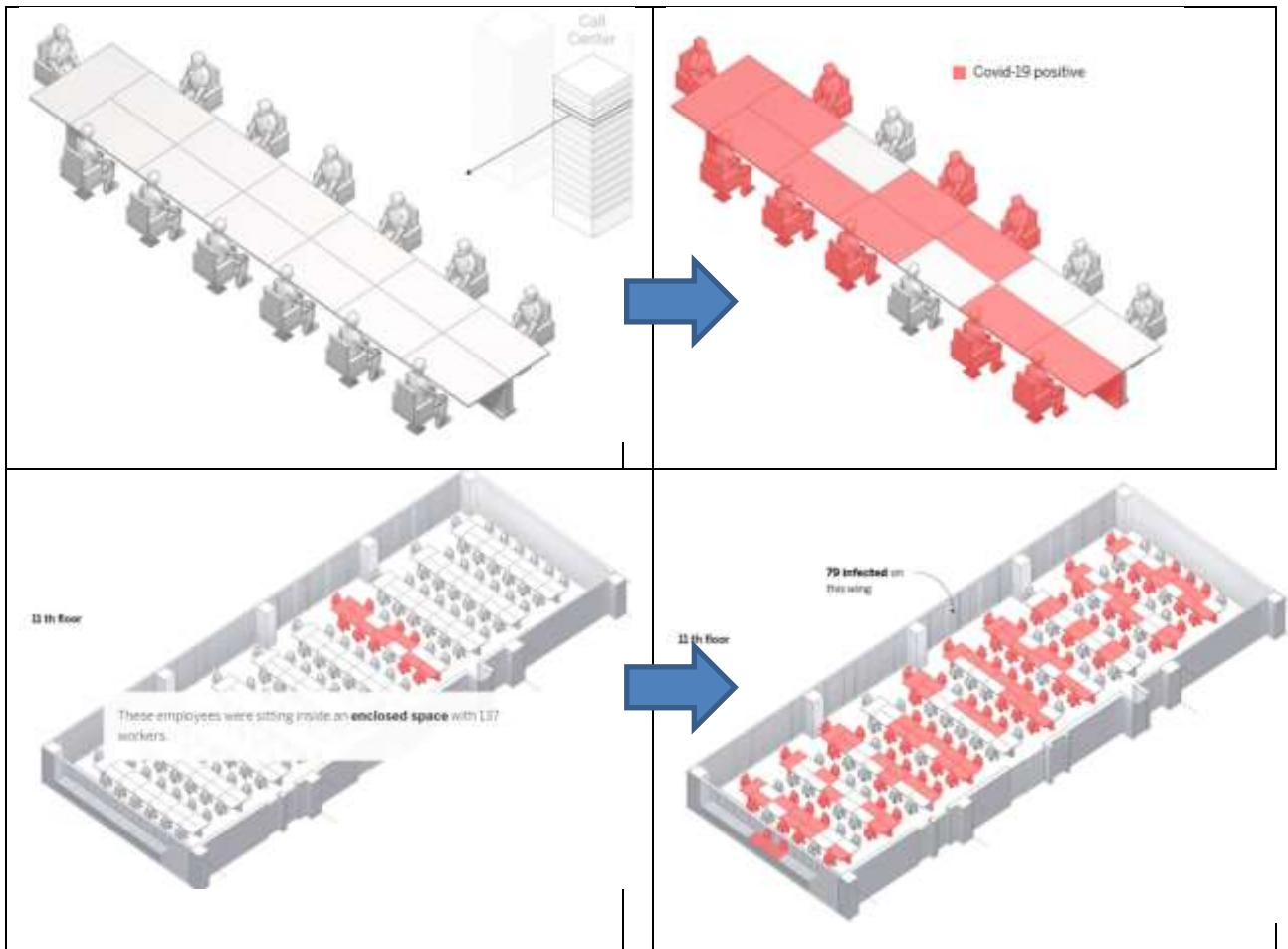
Рис. 17. Летальность (<https://ru.wikipedia.org/wiki/COVID-19>)

## Распространение коронавируса:

([https://english.elpais.com/spanish\\_news/2020-06-17/an-analysis-of-three-covid-19-outbreaks-how-they-happened-and-how-they-can-be-avoided.html](https://english.elpais.com/spanish_news/2020-06-17/an-analysis-of-three-covid-19-outbreaks-how-they-happened-and-how-they-can-be-avoided.html))

Опубликованы подробные данные по изучению распространения коронавируса SARS-CoV-2 на 3 объектах – офис (100 рабочих заразились в 19-этажном здании); кафе (празднование китайского Нового года в переполненном ресторане), автобус (группа буддистов, направляющихся на религиозную церемонию). Информация о распространении случаев заражения была тщательно задокументирована исследователями и властями.

**Офис.** Случаи заболевания зарегистрированы среди работников в одном крыле контакт-центра в Сеуле, Южная Корея. Риск заражения был связан с четырьмя ключевыми факторами: тесный, длительный контакт между многочисленными людьми в замкнутом пространстве.



В конечном итоге тесты 79 сотрудников из 137 (57,6%) дали положительный результат на COVID-19. Постоянный контакт в одном и том же пространстве в течение длительного периода времени играл решающую роль.

Рекомендации по снижению риска заражения офисных сотрудников:

Естественная вентиляция с целью избежать рециркуляции инфицированных частиц



Организуйте рабочие места зигзагообразно и соблюдайте расстояние в два метра между каждым



Избегайте концентрации сотрудников на собраниях или в зонах еды и питья



Держите персонал на расстоянии, используя возможность дистанционной работы



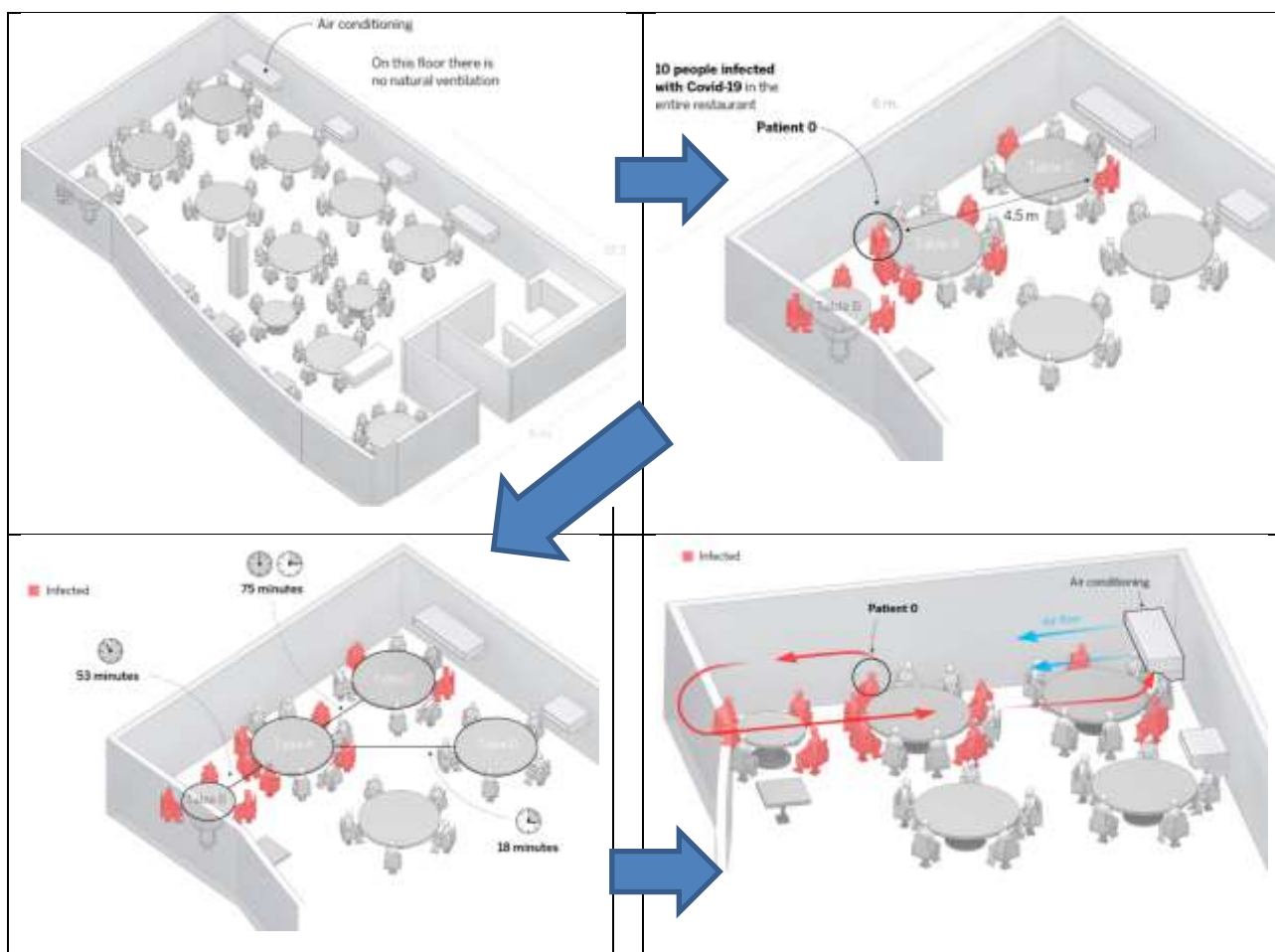
Избегайте физического контакта.



Исключите обмен материалами или оборудованием между сотрудниками без предварительной дезинфекции



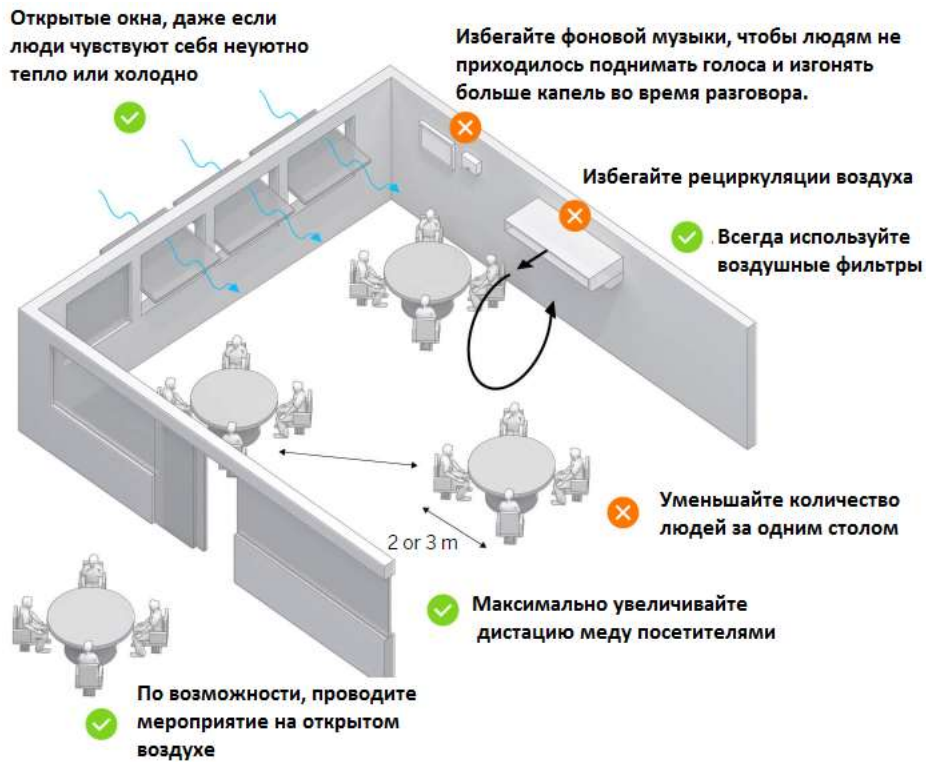
**Ресторан.** Празднование новогоднего вечера в китайском городе Гуанчжоу 24 января. Основной фактор риска – неправильно организованная вентиляция может стать решающим фактором риска, если контакт поддерживается в течение длительного периода времени. Кроме этого, социальная близость умножила риски заражения.



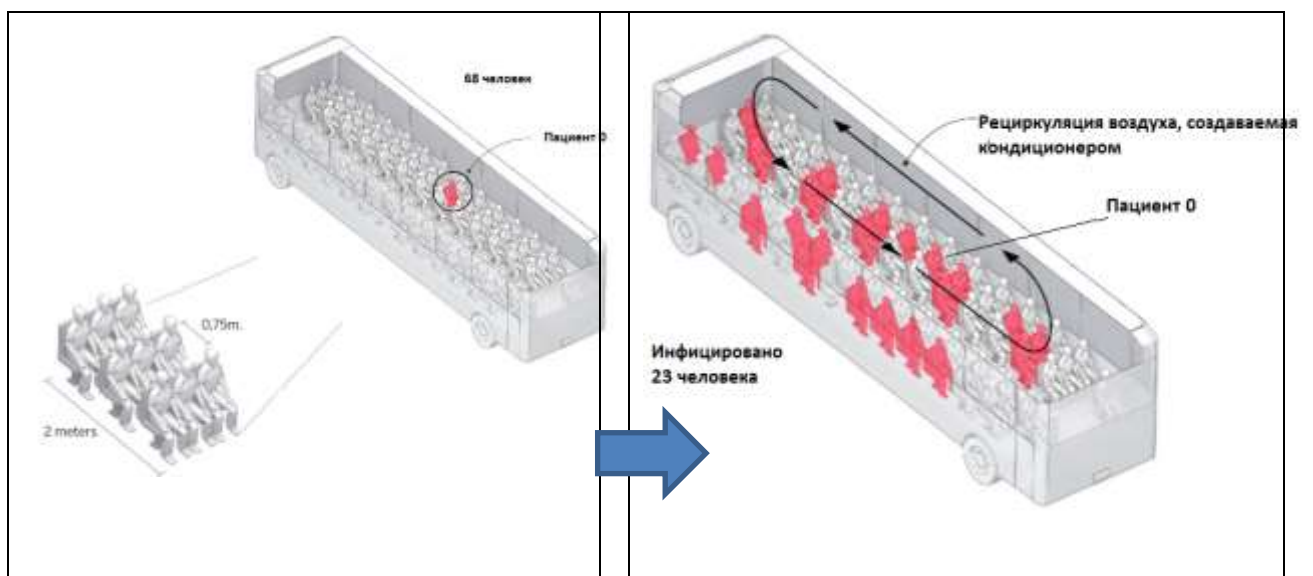
Один инфицированный COVID-19 (Пациент 0) присутствовал на праздновании. В течение нескольких дней после этого обеда еще девяти клиентам был поставлен диагноз COVID-19. Все зараженные, сидевшие за столами В и С, находились на расстоянии более метра от пациента 0, а некоторые – до 4,5 метров. Продолжительность времени обеда имела решающее значение. Прием пищи семей, сидящих за столами В и С, в течение длительного периода времени совпадал по времени с приемом пищи Пациента 0, в то время как обедающие за столом D находились в ресторане в одно время с Пациентом 0 только в течение 18 минут. Ни один обедающий за столом D не заразился.

Исследователи считают, что кондиционирование воздуха сыграло решающую роль. Это означало, что воздух непрерывно циркулировал между тремя столами, распространяя содержащие вирус микрокапельки, выделяемые Пациентом 0.

Рекомендации по снижению риска заражения пациентов ресторана:



**Автобус.** Китайские власти и исследователи из американских университетов проанализировали вспышку после буддийской церемонии, на которой присутствовали люди, путешествовавшие на двух автобусах в общей сложности 100 минут, по 50 минут в каждую сторону. Женщина с симптомами инфекционного заболевания (Пациент 0) ехала на одном из транспортных средств, где работал кондиционер, и воздух принудительно циркулировал по салону; 23 пассажира заразились.



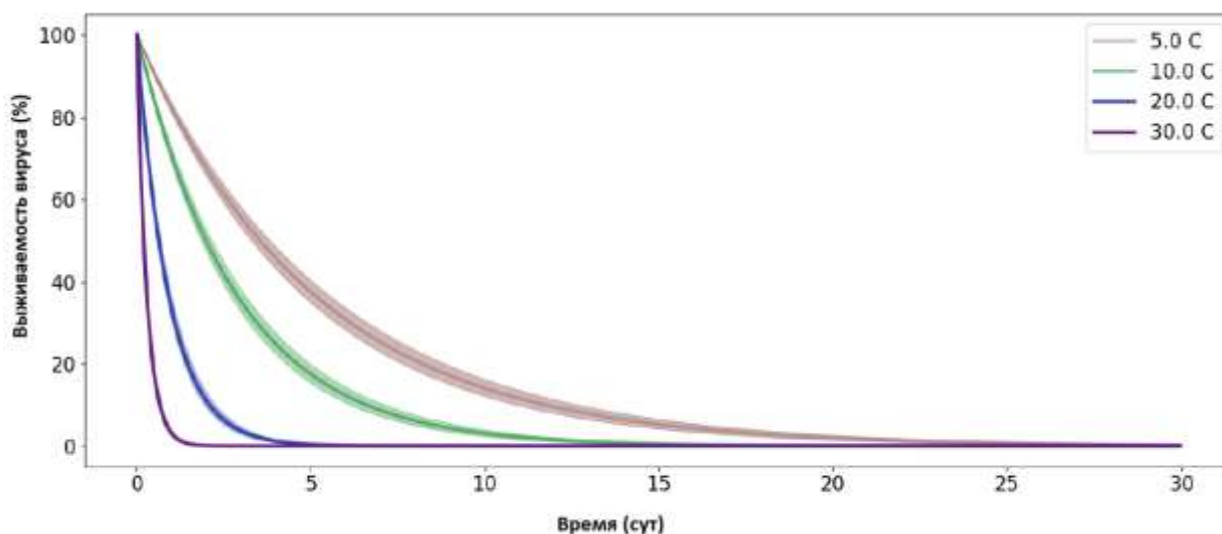
В первом автобусе заразились 23 человека, во втором автобусе никто не заболел несмотря на то, что все они смешивались на церемонии.

Кондиционер был в режиме рециркуляции. Исследователи считают, что это было ключевым фактором заражения; пассажиры заразились независимо от расстояния до Пациента 0.

Ряд исследований, проведенных в Японии и других странах, показывает, что общественный транспорт не несет ответственности за множественные инфекции, пока пользователи соблюдают правила гигиены и защиты, особенно при использовании масок, предотвращающих/уменьшающих попадание вируса от зараженных людей в салон транспортного средства. Для профилактики инфекционных заболеваний предлагается ввести специальные меры защиты для водителей общественного транспорта, а также улучшить вентиляцию и повысить регулярность движения автобусов и поездов с целью уменьшения скопления людей.

### Жизнеспособность коронавируса

**Вода.** В связи с пандемией коронавирусной инфекции возникает вопрос о времени сохранения жизнеспособности коронавируса SARS-CoV-2 в воде, как в питьевой, так и в воде открытых водоемов. Очевидно, что, если окружающая среда, в данном случае вода, окажется благоприятной для сохранения инфекционного агента, она будет представлять опасность для человека. Данные литературы подтверждают, что полная инактивации коронавируса SARS-CoV-2 в чистой воде без примесей происходит, как минимум, в течение нескольких дней. Недавно были проведены наблюдения в 39 странах мира за тем, как коронавирус SARS-CoV-2 ведет себя при попадании в воду, а также оценена опасность употребления неочищенной воды. Оказалось, что в реках и озерах он может находиться до 25 дней, а относительный риск заражения фекальными водами в конкретной стране зависит от окружающей среды. Загрязненные фекалиями реки, водные пути и водные системы в странах с высоким уровнем инфицирования могут обеспечить инфекционные дозы > 100 копий в 100 мл воды.



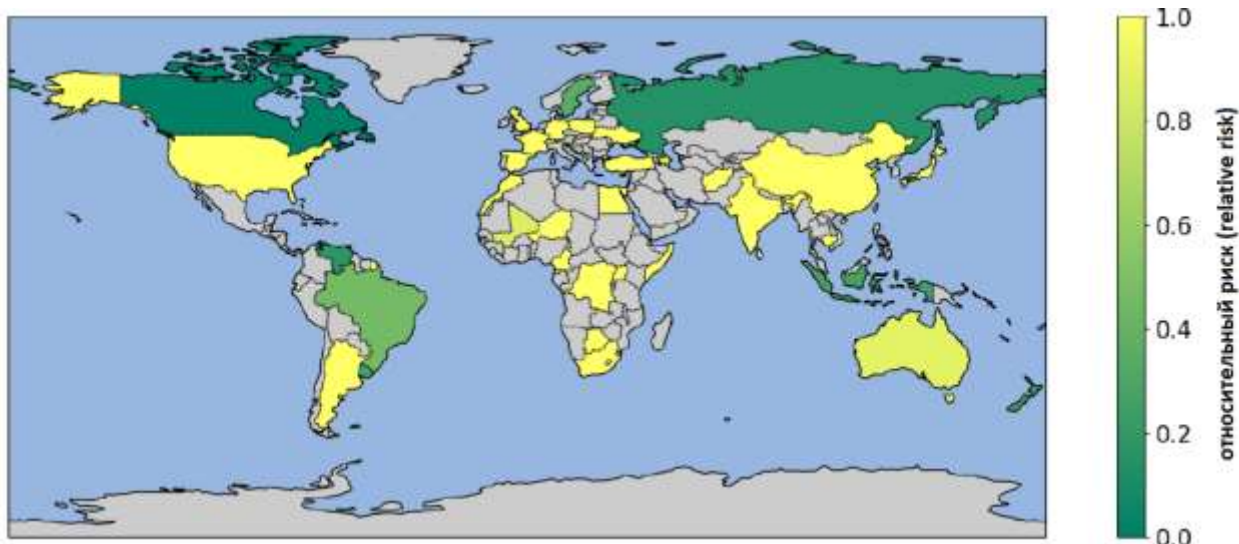


Рис. 18. Выживаемость вируса в воде и относительный риск, связанный с разливами сточных вод в реки для 39 стран; а) смоделированная живучесть, б) страны, в которых относительный риск соотнесен с относительным риском в виде линейной шкалы; серый цвет означает, что страна не включена в исследование.

Относительный риск заражения SARS-CoV-2 от систем сточных вод рассчитывается с использованием модифицированной версии уравнений 1 и 2 из работы (Keller, V. D. J., Williams, R. J., Lofthouse, C. & Johnson, A. C. Worldwide estimation of river concentrations of any chemical originating from sewage-treatment plants using dilution factors. *Environ. Toxicol. Chem.* **33**, 447–452 (2014). doi:10.1002/etc.2441)

$$H_c = \frac{1}{V_{ww,c} DF_c}$$

Где:

-  $V_{ww,c}$  - ежедневный объем потребления воды для бытового потребления в стране  $c$  на душу населения,

-  $DF_c$  - коэффициент разбавления, загруженный из работы (Keller, V. D. J., Williams, R. J., Lofthouse, C. & Johnson, A. C. Worldwide estimation of river concentrations of any chemical originating from sewage-treatment plants using dilution factors. *Environ. Toxicol. Chem.* **33**, 447–452 (2014). doi:10.1002/etc.2441) дополнительной таблицы 1 и дополнительной таблицы 2, соответственно.

Нормализация  $H_c$  по медианным значениям  $DF$  по всей стране обеспечивает относительный риск инфекции, передаваемой через воду, из-за вирусной нагрузки в реке после разлива сточных вод, по стране  $c$ .

Данные по странам различались, рассчитанный максимальный срок сохранения вирусом инфекционной активности был продолжительным относительно других стран в озерах Великобритании, Испании и Марокко (Shutler J., Zaraska K., Holding T.M., Machnik M., Uppuluri K., Ashton I., Migdal L., Dahiya R. Risk of SARS-CoV-2 infection from contaminated water systems // medRxiv 2020.06.17.20133504; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.20133504>). Есть сообщения, что коронавирус SARS-CoV-2 может сохранять свою инфекционную активность в пресных водоемах, в

морской воде морей и океанов. На скорость инактивации вируса влияют такие факторы как pH, температура и концентрации солей в воде (<https://icvtormet.ru/prochee/zhivet-koronavirus-vode>).

**Поверхности.** В обзоре (Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents //Journal of Hospital Infection, 104 (2020) 246-251) собраны и приведены данные о проверке сохранения инфекционной активности коронавирусов на различных поверхностях. Анализ независимо проведенных исследований показывает, что коронавирусы, в т.ч. человека, такие, как SARS, MERS могут сохраняться на таких поверхностях, как металл, стекло или пластик до 9 дней.

Таблица 3.

Сохранение инфекционной активности коронавирусов на различных типах поверхностей (Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents //Journal of Hospital Infection, 104 (2020) 246-251)

Тип поверхности	Вирус (штамм)	Начальный титр вируса	Температура	Срок сохранения инфекционной активности	Литература
Сталь	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	$10^5$	20 °C	48 ч	van Doremalen N, Bushmaker T, Munster VJ. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions. Euro Surveill 2013;18.
			30 °C	8-24 ч	
	TGEV	$10^6$	4 °C	≥ 28 суток	Casanova LM, Jeon S, Rutala WA, Weber DJ, Sobsey MD. Effects of air temperature and relative humidity on coronavirus survival on surfaces. Appl Environ Microbiol 2010;76:2712-7.
			20 °C	3-28 суток	
			40 °C	4-96 ч	
	MHV	$10^6$	4 °C	≥ 28 суток	
			20 °C	4-28 суток	
			40 °C	4-96 ч	
	229E	$10^3$	21 °C	5 суток	Warnes SL, Little ZR, Keevil CW. Human Coronavirus 229E Remains Infectious on Common Touch Surface Materials. mBio 2015;6:e01697-15.
	Алюминий	229E и OC43	$5 \times 10^3$	21 °C	2-8 ч
Металл	SARS (штамм P9)	$10^5$	КТ	5 суток	Duan SM, Zhao XS, Wen RF, Huang JJ, Pi GH, Zhang SX, et al. Stability of SARS coronavirus in human specimens and
Шесть	SARS (штамм P9)	$10^5$	КТ	4 суток	

Бумага	SARS (штамм P9)	$10^5$	КТ	4-5 суток	environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. Biomed Environ Sci 2003;16:246-55.
	SARS (штамм GUV6109)	$10^6$	КТ	24 ч	Lai MY, Cheng PK, Lim WW. Survival of severe acute respiratory syndrome coronavirus. Clin Infect Dis 2005;41:e67-71.
		$10^5$	КТ	3 ч	
		$10^4$	КТ	< 5 мин	
Стекло	SARS (штамм P9)	$10^5$	КТ	4 суток	Duan SM, Zhao XS, Wen RF, Huang JJ, Pi GH, Zhang SX, et al. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. Biomed Environ Sci 2003;16:246-55.
	229E	$10^3$	21 °С	5 суток	Warnes SL, Little ZR, Keevil CW. Human Coronavirus 229E Remains Infectious on Common Touch Surface Materials. mBio 2015;6:e01697-15.
Пластик	SARS (штамм HKU39849)	$10^5$	22-25 °С	≤ 5 суток	Chan KH, Peiris JS, Lam SY, Poon LL, Yuen KY, Seto WH. The Effects of Temperature and Relative Humidity on the Viability of the SARS Coronavirus. Adv Virol 2011;734690.
	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	$10^5$	20 °С	2 суток	van Doremalen N, Bushmaker T, Munster VJ. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions. Euro Surveill 2013;18.
			30 °С	8-24 ч	
	SARS (штамм P9)	$10^5$	КТ	4 суток	Duan SM, Zhao XS, Wen RF, Huang JJ, Pi GH, Zhang SX, et al. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. Biomed Environ Sci 2003;16:246-55.
	SARS (штамм FFM1)	$10^7$	КТ	6-9 суток	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
229E	$10^7$	КТ	2-6 суток		
ПВХ	229E	$10^3$	21 °С	5 сут	Warnes SL, Little ZR, Keevil CW. Human Coronavirus 229E Remains Infectious on Common Touch Surface Materials. mBio 2015;6:e01697- 15.
Силикон, резина	229E	$10^3$	21 °С	5 сут	
Латексные	229E и OC43	$5 \times 10^3$	21 °С	≤ 8 ч	Sizun J, Yu MW, Talbot PJ. Survival of human coronaviruses 229E and

перчатки					OC43 in suspension and after drying on surfaces: a possible source of hospital-acquired infections. J Hosp Infect 2000;46:55-60.
Одноразовый халат	SARS (штамм GUV6109)	10 <sup>6</sup>	КТ	2 суток	Lai MY, Cheng PK, Lim WW. Survival of severe acute respiratory syndrome coronavirus. Clin Infect Dis 2005;41:e67-71.
		10 <sup>5</sup>	КТ	24 ч	
		10 <sup>4</sup>	КТ	1 ч	
Керамика	229E	10 <sup>3</sup>	21 °С	5 суток	Warnes SL, Little ZR, Keevil CW. Human Coronavirus 229E Remains Infectious on Common Touch Surface Materials. mBio 2015;6:e01697-15.
Тефлон	229E	10 <sup>3</sup>	21 °С	5 суток	

MERS - Middle East Respiratory Syndrome; HCoV - human coronavirus; TGEV - transmissible gastroenteritis virus; MHV - mouse hepatitis virus; SARS - Severe Acute Respiratory Syndrome; КТ – комнатная температура

Исследование по изучению инактивации коронавирусов на поверхностях цветных металлов показало, что использованный в качестве модельного человеческий коронавирус 229E был инактивирован на поверхности латунных изделий в течение 40 минут и в течение 120 минут – на поверхностях из медно-никелевых сплавов, содержащих менее 70 % меди. Анализ первых 30 минут контакта вируса с металлами обнаруживает начальную задержку с последующей быстрой инактивацией. Нержавеющая сталь и никель не проявляли выраженной противовирусной активности (Warnes SL, Little ZR, Keevil CW. 2015. Human coronavirus 229E remains infectious on common touch surface materials. mBio 6(6):e01697-15. doi:10.1128/mBio.01697-15.).

В другом исследовании была изучена стабильность коронавирусов в аэрозоле. Жизнеспособный вирус SARS-CoV-2 может быть обнаружен в аэрозолях в течение 3 часов после распыления, период «полураспада» вируса в аэрозолях составляет около 2,7 часа. Сравнение вирусов SARS-CoV-2 и SARS-CoV-1 не выявило различий в динамике инактивации в аэрозоле и на контаминированных поверхностях. Оба вируса демонстрировали относительно долгую жизнеспособность на поверхностях из нержавеющей стали и полипропилена и более быструю инактивацию на поверхностях из меди и картона. Период «полураспада» SARS-CoV-2 составляет около 13 часов на стали и около 16 часов на полипропилене. (Neeltje van Doremalen, Trenton Bushmaker, Dylan H. Morris, Myndi G. Holbrook, Amandine Gamble, Brandi N. Williamson, Azaibi Tamin, Jennifer L. Harcourt, Natalie J. Thornburg, Susan I. Gerber, James O. Lloyd-Smith, Emmie de Wit, Vincent J. Munster. **Aerosol and surface stability of HCoV-19 (SARS-CoV-2) compared to SARS-CoV-1.** doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.09.20033217>).

**Дезинфектанты.** Все разрешенные в установленном порядке дезинфицирующие средства при использовании в рекомендованных концентрациях эффективно и быстро инактивируют коронавирусы. Этиловый спирт в концентрации 62-71%, перекись водорода в концентрации 0,5%, или гипохлорит натрия в концентрации 0,1% инактивируют коронавирусы в течение 1 минуты. Другие биоцидные агенты, такие как, 0,05-0,2% хлорид бензалкония или 0,02% диглюконат хлоргексидина менее эффективны (Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents //Journal of Hospital Infection, 104 (2020) 246-251).

Таблица 4.

Инактивация коронавирусов различными дезинфектантами (Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents //Journal of Hospital Infection, 104 (2020) 246-251)

Дезинфектант	Концентрация	Вирус (штамм)	Время экспозиции	Снижение титра вируса ( $\log_{10}$ )	Литература
Этиловый спирт	95%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 5,5$	Rabenau HF, Kampf G, Cinatl J, Doerr HW. Efficacy of various disinfectants against SARS coronavirus. J Hosp Infect 2005;61:107-11.
	85%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 5,5$	
	80%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 4,3$	
	80%	MERS (штамм EMC)	30 сек	$> 4,0$	Siddharta A, Pfaender S, Vielle NJ, Dijkman R, Friesland M, Becker B, et al. Virucidal Activity of World Health Organization- Recommended Formulations Against Enveloped Viruses, Including Zika, Ebola, and Emerging Coronaviruses. J Infect Dis 2017;215:902-6.
	78%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 5,0$	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
	70%	MHV	10 мин	$> 3,9$	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
	70%	CCV	10 мин	$> 3,3$	
Изопропанол (Изопропиловый спирт, пропанол-2)	100%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 3,3$	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
	75%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 4,0$	Siddharta A, Pfaender S, Vielle NJ, Dijkman R, Friesland M, Becker B, et al. Virucidal Activity of World Health Organization- Recommended Formulations Against Enveloped Viruses, Including Zika, Ebola, and Emerging Coronaviruses. J Infect Dis 2017;215:902-6.
	75%	MERS (штамм EMC)	30 сек	$\geq 4,0$	
	70%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	$\geq 3,3$	
	50%	MHV	10 мин	$> 3,7$	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-



	50%	CCV	10 мин	> 3,7	chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
Изопропанол + Пропиловый спирт (пропан-1-ол, 1-пропанол, C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH)	45% + 30%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	≥ 4,3	Rabenau HF, Kampf G, Cinatl J, Doerr HW. Efficacy of various disinfectants against SARS coronavirus. J Hosp Infect 2005;61:107-11.
	45% + 30%	SARS (штамм FFM1)	30 сек	≥ 2,8	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
Бензалкония хлорид	0,2%	OC43	10 мин	0	Wood A, Payne D. The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses. J Hosp Infect 1998;38:283-95.
	0,05%	MHV	10 мин	> 3,7	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
	0,05%	CCV	10 мин	> 3,7	
	0,00175 %	CCV	3 суток	3,0	Pratelli A. Action of disinfectants on canine coronavirus replication in vitro. Zoonoses Publ Health 2007;54:383-6.
Дидецил метил аммоний хлорид	0,0025%	CCV	3 суток	> 4,0	
Хлоргексидин диглюконат	0,02%	MHV	10 мин	0,7 – 0,8	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
	0,02%	CCV	10 мин	0,3	
Гипохлорит натрия	0,21%	MHV	30 сек	≥ 4,0	Dellanno C, Vega Q, Boesenberg D. The antiviral action of common household disinfectants and antiseptics against murine hepatitis virus, a potential surrogate for SARS coronavirus. Am J Infect Control 2009;37:649-52.
	0,01%	MHV	10 мин	2,3 – 2,8	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
	0,01%	CCV	10 мин	1,1	
	0,001%	MHV	10 мин	0,3 – 0,6	
	0,001%	CCV	10 мин	0,9	
Перекись водорода	0,5%	229E	1 мин	> 4,0	Omidbakhsh N, Sattar SA. Broad-spectrum microbicidal activity, toxicologic assessment, and materials compatibility of a new generation of accelerated hydrogen peroxide-based environmental

					surface disinfectant. Am J Infect Control 2006;34:251-7.
Формальдеги Д	1%	SARS (штамм FFM1)	2 мин	> 3,0	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
	0,7%	SARS (штамм FFM1)	2 мин	> 3,0	
	0,7%	MHV	10 мин	> 3,5	Saknimit M, Inatsuki I, Sugiyama Y, Yagami K. Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. Jikken Dobutsu Exp Anim 1988;37:341-5.
	0,7%	CCV	10 мин	> 3,7	
	0,09%	CCV	24 ч	> 4,0	Pratelli A. Canine coronavirus inactivation with physical and chemical agents. Vet J (London, England : 1997) 2008;177:71-9
Глутаровый альдегид	2,5%	SARS (штамм Hanoi)	5 мин	> 4,0	Kariwa H, Fujii N, Takashima I. Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions and chemical reagents. Dermatol (Basel, Switzerland) 2006;212(Suppl 1):119-23.
	0,5%	SARS (штамм FFM1)	2 мин	> 4,0	Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. Med Microbiol Immunol 2005;194:1-6.
Повидон-йод (Povidone- iodine)	7,5%	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	15 сек	4,6	Eggers M, Eickmann M, Zorn J. Rapid and Effective Virucidal Activity of Povidone-iodine Products Against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) and Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA). Infect Dis Ther 2015;4:491-501.
	4%	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	15 сек	5,0	
	1%	SARS (штамм Hanoi)	1 мин	> 4,0	Kariwa H, Fujii N, Takashima I. Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions and chemical reagents. Dermatol (Basel, Switzerland) 2006;212(Suppl 1):119-23.
	1%	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	15 сек	4,3	Eggers M, Eickmann M, Zorn J. Rapid and Effective Virucidal Activity of Povidone-iodine Products Against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) and Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA). Infect Dis Ther 2015;4:491-501.
	0,47%	SARS (штамм Hanoi)	1 мин	3,8	Kariwa H, Fujii N, Takashima I. Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions and chemical reagents.

	0,25%	SARS (штамм Hanoi)	1 мин	> 4,0	Dermatol (Basel, Switzerland) 2006;212(Suppl 1):119-23.
	0,23%	SARS (штамм Hanoi)	1 мин	> 4,0	
	0,23%	SARS (штамм FFM1)	15 сек	≥ 4,4	Eggers M, Koburger-Janssen T, Eickmann M, Zorn J. In Vitro Bactericidal and Virucidal Efficacy of Povidone-Iodine Gargle/Mouthwash Against Respiratory and Oral Tract Pathogens. Infect Dis Ther 2018;7:249-59.
	0,23%	MERS (штамм HCoV-EMC/2012)	15 сек	≥ 4,4	

SARS - Severe Acute Respiratory Syndrome; MERS - Middle East Respiratory Syndrome; MHV - mouse hepatitis virus; CCV - canine coronavirus.

**Маски.** При кашле человек за один раз выбрасывает в воздух около трех тысяч мельчайших капель со скоростью 80 км/ч, при чихании – порядка 30 тысяч частиц, движущихся со скоростью до 320 километров в час. При чихании образуются частицы гораздо меньшего размера, и они легко преодолевают расстояние 5-7 м. При одном выдохе человек выделяет от 50 до 5000 капелек. Большинство из них движутся медленно и почти сразу падают на землю. Количество капель сильно сокращается, если человек дышит носом. Нос – это добавочный фильтр, и воздух направляется вертикально вниз. Таким образом, число выделяемых вирусных частиц сравнительно невелико. Важно и то, что при обычном дыхании воздух выходит без усилия, так что вирусные частицы из нижних дыхательных путей в него не попадают. Это важно, поскольку в легких и трахее зараженного человека концентрация коронавируса выше, чем в горле и во рту. Сколько частиц вируса SARS-CoV-2 выделяется при дыхании, неизвестно, но согласно ряду исследований при обычном гриппе больной распространяет от трех до 20 вирусных частиц в минуту (Erin Bromage, Массачусеттский университет, <https://www.bbc.com/russian/features-52684037>, <https://www.erinbromage.com/post/the-risks-know-them-avoid-them>).

Пандемия COVID-19 актуализировала необходимость получения точных данных, полученных научными способами, о процедуре использования масок. В условиях дефицита этого изделия на первых этапах пандемии в качестве лицевых масок использовали не только коммерческие медицинские маски, но и сделанные в домашних условиях аналоги, весьма эффективные строительные респираторы и т.д.

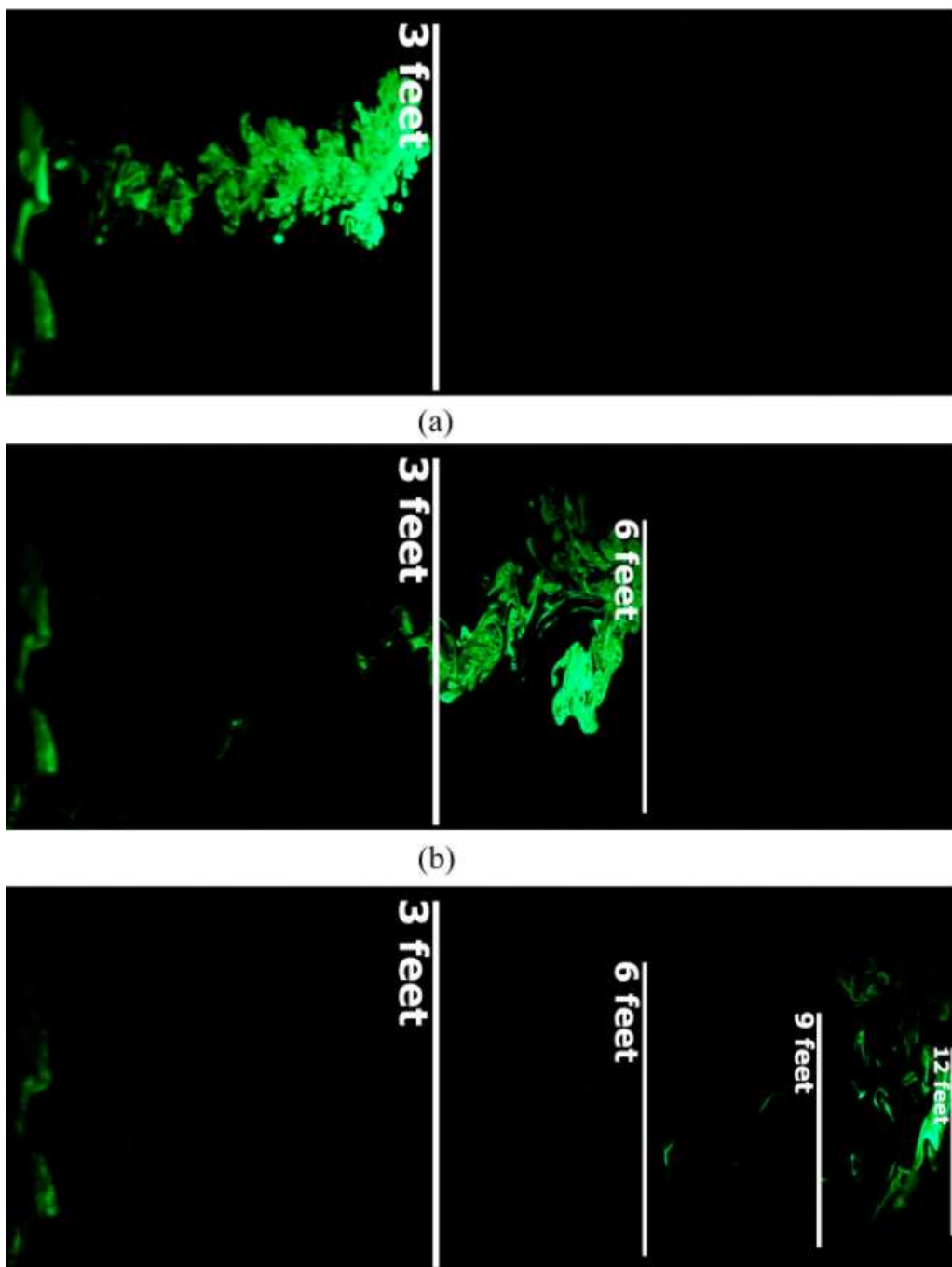
Данные исследований о каплях, выделяемых как здоровыми, так и инфицированными людьми при выполнении различных действий, показали, что характеристики этих капель могут значительно различаться в зависимости от их диаметра. Измеренные диаметры капель широко варьируют в разных исследованиях, доступных в литературе, и обычно лежат в диапазоне 1-500 мкм (Z. Y. Han, W. G. Weng, and Q. Y. Huang, "Characterizations of particle size distribution of the droplets exhaled by sneeze," J. R. Soc., Interface **10**, 20130560 (2013).) со средним диаметром ~10 мкм (C. Y. Chao, M. P. Wan, L. Morawska, G. R. Johnson, Z. D. Ristovski, M. Hargreaves, K. Mengersen, S. Corbett, Y. Li, X. Xie, and D. Katoshevski, "Characterization of expiration air jets and droplet size distributions immediately at the mouth opening," J. Aerosol Sci. **40**, 122–133 (2009).).

Крупные капли (диаметром >100 мкм) следуют баллистическим траекториям под действием силы тяжести и аэродинамического сопротивления. Капли среднего размера могут

переноситься на значительные расстояния в пределах многофазного турбулентного облака. Самые маленькие капли и частицы (диаметр <5-10 мкм) могут оставаться в воздухе неопределенно долго, пока не будут унесены потоком воздуха.

Исследователи из университета Флориды (США) сравнили несколько видов масок по тому, как они препятствуют распространению коронавируса (Siddhartha Vermaa, Manhar Dhanakb, and John Frankenfieldc. Visualizing the effectiveness of face masks in obstructing respiratory jets //Physics of Fluids 32, 061708 (2020); <https://doi.org/10.1063/5.0016018>). В эксперименте участвовали три вида масок: двухслойная хлопковая, однослойная самодельная маска типа банданы и нестерильная аптечная маска в виде конуса. Они были выбраны исходя из их доступности для массового потребителя.

Сначала ученые показали, что капли тумана диаметром менее 10 мкм могут оставаться в подвешенном состоянии до 3 минут в абсолютно неподвижном воздухе без заметного оседания. Затем с помощью манекена было имитировано образование капель при «кашле». Ученые обнаружили, что при кашле, во время которого человек без маски, капли могут перемещаться более чем на 3,5 м за 50 секунд (рис. 19-21).



С банданой они распространялись на расстояние 1 м, со сложенным хлопковым платком – приблизительно на 40 см, а при использовании конусообразной маски – всего на 20 см. Через плотно сшитую хлопковую маску капли распространялись менее чем на 10 см.

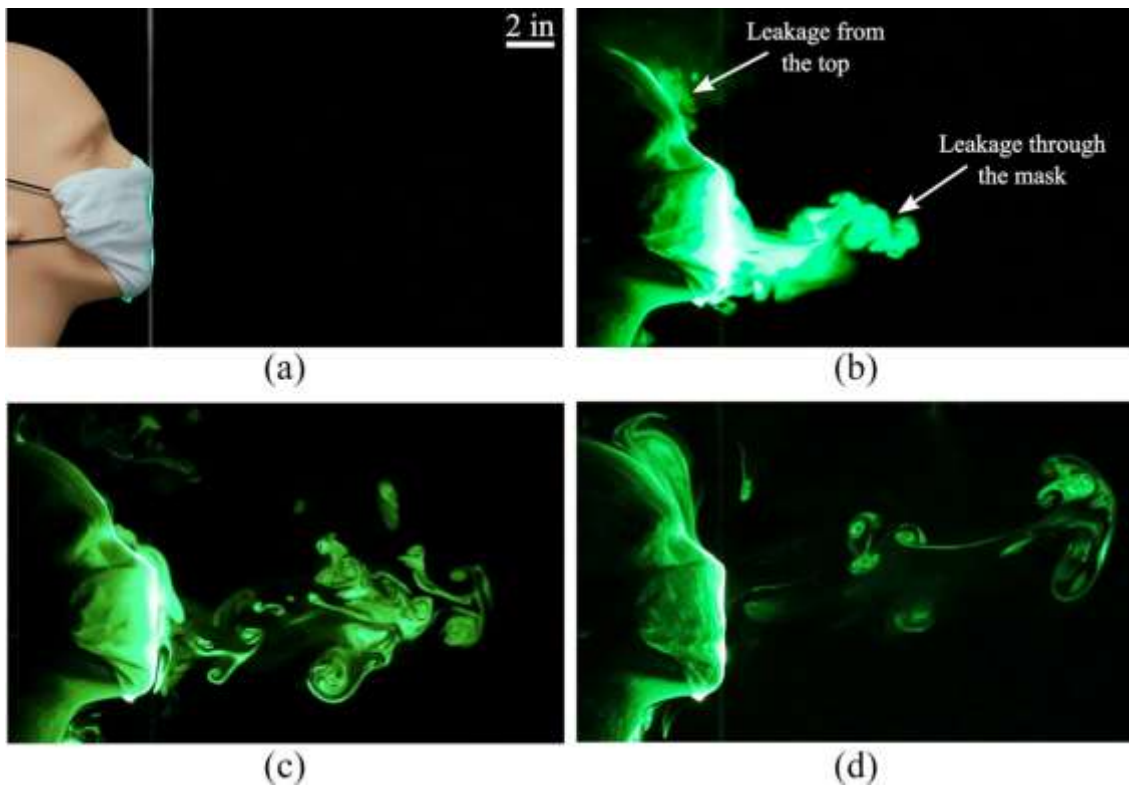


Рис. 19. Маска для лица, сложенная из хлопкового платка. Изображения, полученные через (b) 0,5 сек., (c) 2,27 сек. и (d) 5,55 сек. после начала имитационного кашля.

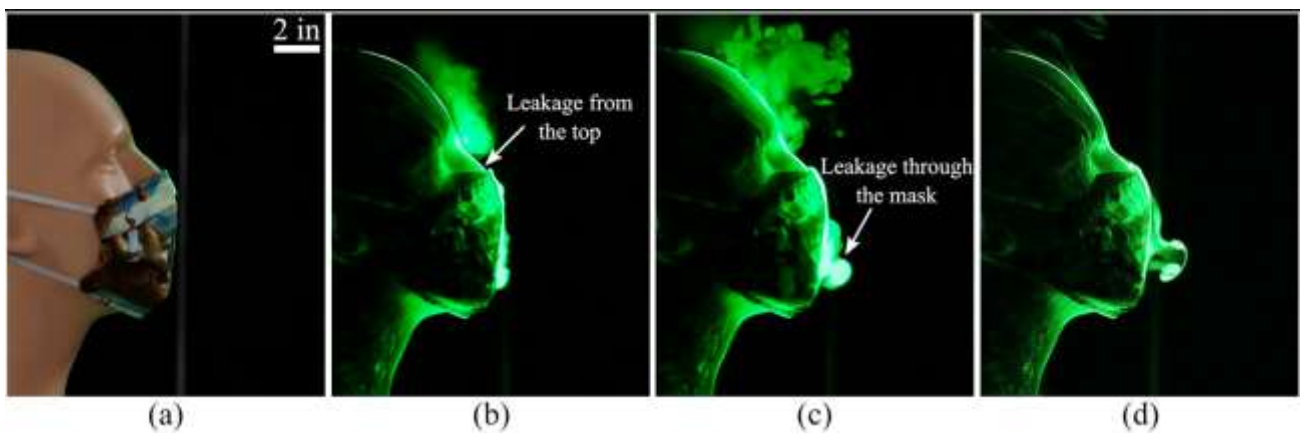


Рис. 20. Домашняя маска для лица сшита с использованием двухслойной хлопковой стеганой ткани. Изображения, полученные через (b) 0,2 сек., (c) 0,47 сек. и (d) 1,68 сек. после начала имитационного кашля.

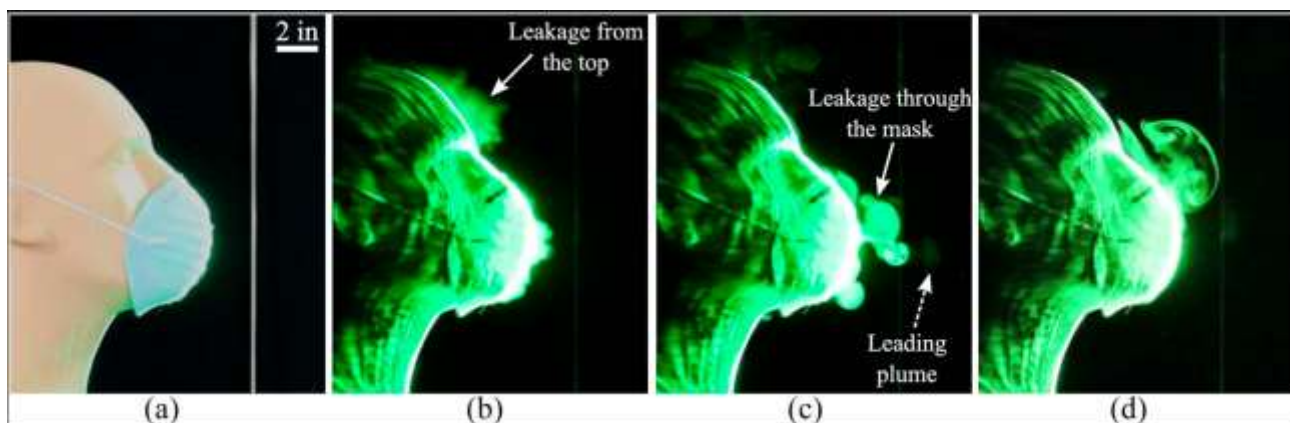


Рис. 21. Стандартная маска в форме конуса. Изображения, полученные (б) через 0,2 с после начала имитационного кашля, (с) через 0,97 с после начала имитационного кашля, (d) через 3,7 с после начала имитационного кашля.

Хотя протестированные маски и показали не идеальный результат, они, тем не менее, могут сдерживать более крупные капли и существенно сокращать расстояние, на которое инфицированные вирусом SARS-CoV-2 капли могут распространяться.

В другом, популяционном исследовании были изучены риски заражения при различных вариантах использования защитных масок.



Для полной защиты органов дыхания рекомендуются респираторы ШБ-1 «Лепесток» или любая маска со степенью защиты FFP3.

В России уровню защиты FFP3 отвечают респираторы ШБ-1 «Лепесток» которые выпускаются по ГОСТ 12.4.028-76 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Респираторы

ШБ-1 «Лепесток». Технические условия (с Изменениями № 1, 2). Основные характеристики респираторов ШБ-1 «Лепесток» приведены в Таблице 6.

Таблица 6.

Характеристики респираторов ШБ-1 «Лепесток» в соответствии с ГОСТ 12.4.028-76 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Респираторы ШБ-1 «Лепесток».

Наименование респиратора	Кратность превышения допустимых концентраций аэрозолей в окружающем воздухе при диаметре частиц, мкм, не более		Коэффициент проскока аэрозолей, %, не более, при среднем диаметре частиц, мкм		Начальное сопротивление, Па, не более
	до 2	свыше 2	0,28-0,34	0,6-0,8	
ШБ-1 "Лепесток-200"	200	200	0,4	0,1	42
ШБ-1 "Лепесток-40"	40	200	2	0,5	14
ШБ-1 "Лепесток-5"	5	200	16	4	7

Основу для респираторов ШБ-1 «Лепесток» составляют фильтры Петрянова – материалы на основе полимерных волокон из хлорированного поливинилхлорида (перхлорвинил, химическая формула:  $[C_nH_{2n+2-x}Cl_x]$ , где  $n < 2x < 2n$ ), ацетатцеллюлозы или из стекловолокон, нанесенных тонким слоем на марлю или подложку из более грубых волокон. Материал позволяет уместить фильтр большой площади в малый объем, при этом пыль или аэрозоль накапливаются в фильтре, эффективность которого зависит от диаметра волокон, связи между волокнами и других параметров. Регенерация такого фильтра после накопления пыли, как правило, не возможна. Кроме того, при высоких концентрациях (более  $5 \text{ мг/м}^3$ ) часть пыли или аэрозоля неизбежно проходит сквозь фильтр. Перхлорвиниловые волокна (ФПП) обладают высокой химической, но малой (до  $60^\circ\text{C}$ - $70^\circ\text{C}$ ) термической стабильностью, целлюлозные волокна (ФПА) наоборот, чувствительны к химическим воздействиям, таким как гидролиз, но стабильны при температурах до  $150^\circ\text{C}$  (Биргер М.И Справочник по пыли- и золоулавливанию М.: Энергоатомиздат, 1983). В 1966 году коллективу из 11 человек во главе с академиком И.В. Петряновым, разработавшему респиратор типа «Лепесток», была присуждена Ленинская премия за теорию и технологию получения новых фильтрующих материалов и их внедрение в атомную промышленность.

Выпускается три вида подобных респираторов: Лепесток-200, Лепесток-40, Лепесток-5 с использованием материалов ФПП (перхлорвинил) с волокнами диаметром соответственно 15, 70 и 70 мкм и аэродинамическим сопротивлением в 15, 5 и 2 Па при скорости фильтрации 1 см/с. Эффективность этих респираторов условно оценивается как приемлемая при превышении допустимой концентрации пыли в 200, 40 и 5 раз. Однако эта декларируемая эффективность не подтверждается испытаниями в производственных условиях и обоснована испытанием изолированного фильтра в лабораторных условиях (в зажиме), что не учитывает основной путь попадания загрязнений под маску – просачивание через зазоры между маской и лицом. В современных вариантах возможно применение других полимеров, например на основе стирола ([https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B5%D0%BF%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BA\\_%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B5%D0%BF%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BA_%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80)).

Респиратор защищает человека от попадания в организм бактерий и вирусов, находящихся в воздухе, поэтому применяется в медицине для профилактики заболеваний, передающихся воздушно-капельным путём. В связи с особенностями конструкции фильтров респираторы не следует применять при дожде или снеге и при высоких температурах ([https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B5%D0%BF%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BA\\_%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B5%D0%BF%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BA_%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D1%80)).



**Обработка рук.** Обработка рук входит в перечень стандартных мер предосторожности, которые предназначены для снижения риска передачи патогенов, и является одним из основных средств профилактики инфекции. В рекомендациях ВОЗ мытье и обработка рук входят в основной перечень мер предосторожности для защиты от новой коронавирусной инфекции (<https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>):

### **Основные меры предосторожности для защиты от новой коронавирусной инфекции**

Защитить свое здоровье и здоровье окружающих можно, соблюдая следующие правила:

#### **Регулярно мойте руки**

Регулярно обрабатывайте руки спиртосодержащим средством или мойте их с мылом. **Зачем это нужно?** Если на поверхности рук присутствует вирус, то обработка рук спиртосодержащим средством или мытье их с мылом убьет его.

#### **Соблюдайте дистанцию в общественных местах**

Держитесь от людей на расстоянии как минимум 1 метра, особенно если у них кашель, насморк и повышенная температура. **Зачем это нужно?** Кашляя или чихая, человек, болеющий респираторной инфекцией, такой как 2019-nCoV, распространяет вокруг себя мельчайшие капли, содержащие вирус. Если вы находитесь слишком близко к такому человеку, то можете заразиться вирусом при вдыхании воздуха.

#### **По возможности, не трогайте грязными, не свежепомытыми руками глаза, нос и рот**

**Зачем это нужно?** Руки касаются многих поверхностей, на которых может присутствовать вирус. Прикасаясь содержащими инфекцию руками к глазам, носу или рту, можно перенести вирус с кожи рук в организм.

#### **Соблюдайте правила респираторной гигиены**

При кашле и чихании прикрывайте рот и нос салфеткой или сгибом локтя; сразу выкидывайте салфетку в контейнер для мусора с крышкой и обрабатывайте руки спиртосодержащим антисептиком или мойте их водой с мылом. **Зачем это нужно?** Прикрывание рта и носа при кашле и чихании позволяет предотвратить распространение вирусов и других болезнетворных микроорганизмов. Если при кашле или чихании прикрывать нос и рот рукой, микробы могут попасть на ваши руки, а затем на предметы или людей, к которым вы прикасаетесь.

#### **При повышении температуры, появлении кашля и затруднении дыхания как можно быстрее обращайтесь за медицинской помощью**

Если вы посещали районы Китая, где регистрируется 2019-nCoV, или тесно общались с кем-то, у кого после поездки из Китая наблюдаются симптомы респираторного заболевания, сообщите об этом медицинскому работнику. **Зачем это нужно?** Повышение температуры, кашель и затруднение дыхания требуют незамедлительного обращения за медицинской помощью, поскольку могут быть вызваны респираторной инфекцией или другим серьезным заболеванием. Симптомы поражения органов дыхания в сочетании с повышением температуры могут иметь самые различные причины, среди которых в зависимости от совершенных пациентом поездок и его контактов может быть 2019-nCoV.

#### **Следите за новейшей информацией и выполняйте рекомендации медицинских специалистов**

Следите за новейшей информацией о COVID-19. Выполняйте рекомендации специалистов, центральных и местных органов общественного здравоохранения, а также организации, в которой вы работаете, по защите себя и окружающих от COVID-19. **Зачем это нужно?** У центральных и местных органов здравоохранения имеется самая актуальная информация о динамике заболеваемости COVID-19 в вашем районе. Они могут выдать наиболее подходящие рекомендации о мерах индивидуальной защиты для жителей вашего района.



## Клиническая картина заболевания коронавирусными инфекциями

У человека коронавирусы вызывают главным образом респираторные симптомы. Коронавирусы SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2 вызывают тяжелые пневмонии. Для проникновения в клетку эти вирусы используют рецептор ACE2. Определение содержания этого белка в органах и тканях человека, включая слизистую оболочку дыхательных путей, легкие, желудок, тонкую кишку, толстую кишку, кожу, лимфатические узлы, тимус, костный мозг, селезенку, печень, почки и мозг, показало, что ACE2 в больших количествах обнаруживается в легких и тонкой кишке, экспрессия этого белка наиболее высока в эндотелиальных и гладкомышечных клетках практически всех органов. По-видимому, попав в систему кровообращения, коронавирусы SARS и SARS-CoV-2 распространяются через кровоток (Hamming I., W. Timens, M.L.C. Bulthuis, A.T. Lely, G.J. Navis, H. van Goor, Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis, J. Pathol. 203 (2) (2004) 631–637.). Эти данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-1 и, по-видимому, SARS-CoV-2 влияют на функциональность не только дыхательной системы заболевшего, но также являются потенциальными угрозами для пищеварительной, мочеполовой, центральной нервной системы и системы кровообращения.

Клинические симптомы инфекции COVID-19 значительно варьируют от пациента к пациенту. Вирус сначала поражает эпителиальные клетки респираторного тракта и клетки альвеол, а затем – клетки пищеварительной системы. РНК вируса также обнаруживается в образцах кала пациентов, инфицированных SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2. Это подтверждают данные изучения секционных образцов: процесс репликации коронавируса в кишечной ткани по данным электронно-микроскопического исследования очень активный. Тропизмом к клеткам кишечника объясняют возникновение диареи при COVID-19. Выявление мРНК ACE2 показало высокий

уровень его экспрессии в эпителиальных клетках проксимального и дистального кишечника. Это говорит о том, что клиницисты при выявлении больных COVID-19 должны обращать внимание на пациентов с диареей (W. Liang, Z. Feng, S. Rao, C. Xiao, Z. Lin, Q. Zhang, et al., Diarrhea May Be Underestimated: a Missing Link in 2019 Novel Coronavirus, (2020) 2020.02.03.20020289).

Присутствие в больших количествах в организме S-белка SARS-CoV-2 снижает экспрессию ACE2 в легких, вызывая их повреждение через систему ренин-ангиотензин. В кишечнике ACE2 играет важную роль в поддержании аминокислотного баланса, регулировании экспрессии антимикробных пептидов и обеспечении равновесия состава кишечной флоры. Анализ экспрессии ACE2 в клетках толстой кишки у пациентов с заболеваниями кишечника или колитами выявил положительную корреляцию с подавлением вирусной инфекции и регуляцией врожденного клеточного иммунитета и отрицательную корреляцию – с фагоцитозом и активацией комплемента (J. Wang, S. Zhao, M. Liu, Z. Zhao, Y. Xu, P. Wang, et al., ACE2 Expression by Colonic Epithelial Cells Is Associated With Viral Infection, Immunity and Energy Metabolism, (2020) 2020.02.05.20020545.). Таким образом, если диарея или другие симптомы кишечной инфекции возникают во время лечения, пациент должен получить быстрое интегративное лечение по мере необходимости, в том числе против диареи: терапевтическое вмешательство – регидратация, коррекция электролитных нарушений и противовирусная терапия.

Есть информация об еще одном проявлении заболевания – конъюнктивит и кератоконъюнктивит.

Ретроспективный анализ показал, что среди пациентов с коронавирусной инфекцией SARS доля пациентов с острой почечной недостаточностью была низкой, но смертность в этой группе была более 90%. Zhong et al. показали, что РНК коронавируса была выделена из образцов мочи пациентов с COVID-19. В нескольких исследованиях, проведенных в группах пациентов с тяжелым течением COVID-19 или летальными исходами, была обнаружена корреляция с нарушением функции почек у этих больных (Z. Li, M. Wu, J. Guo, J. Yao, X. Liao, S. Song, et al., Caution on Kidney Dysfunctions of 2019-nCoV Patients, (2020) 2020.02.08.20021212; C. Fan, K. Li, Y. Ding, W.L. Lu, J. Wang, ACE2 Expression in Kidney and Testis May Cause Kidney and Testis Damage After 2019-nCoV Infection, (2020) 2020.02.12.20022418.). При этом анализ экспрессии ACE2 в различных органах и тканях показал, что ACE2 высоко экспрессируется в тубулярных клетках почек, мезенхимальных клетках и клетках семявыносящего протока. Было обнаружено, что уровни мРНК и белка ACE2 в яичках был выше, чем в любом другом органе.

## **Клиническая картина заболевания коронавирусными инфекциями БВРС и COVID-19**

Скорее всего, у своих первоначальных хозяев – животных, коронавирусы вызывают заболевание в легкой форме. Однако, когда коронавирусы животных начинают поражать людей, они могут вызывать тяжелые заболевания. Так произошло в случае SARS-CoV-1 (атипичная пневмония) и MERS-CoV, так же, по всем имеющимся на сегодня данным, происходит и для SARS-CoV-2.

Основными симптомами заболевания COVID-19 являются повышение температуры тела (чаще 38-39<sup>0</sup>С) в > 90% случаев; кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты) примерно в 80% случаев; ощущение сдавленности в грудной клетке в > 20% случаев; одышка в 15% случаях; миалгия, слабость, головная боль. Сообщается о регистрации случаев с нетипичным началом заболевания: симптомы со стороны ЖКТ (диарея, тошнота, рвота, снижение аппетита), нервной системы (ментальные расстройства, головная боль), сердечно-сосудистой системы (учащённое сердцебиение, дискомфорт в грудной клетке). Примерно 40% больных COVID-19 на ранних этапах

теряли способность распознавать запахи, а потеря вкуса была характерна для 30% из них. В общей сложности, у более чем 50% пациентов появлялась хотя бы одна или обе эти проблемы.

По мере развития болезни может наблюдаться затруднение дыхания, вплоть до дыхательной недостаточности, у некоторых больных (около 15%) появляются такие симптомы, как диспноэ. Лабораторные тесты на ранних стадиях болезни могут показать у более чем 80% больных нормальный или пониженный уровень лейкоцитов и пониженный уровень лимфоцитов. У больного может быть повышенный уровень ферментов печени. На рентгенограмме легких могут быть видны экссудаты с симптомом «матового стекла». Болезнь проявляется как острый тяжелый респираторный синдром, в основном – пневмония.

**ВОЗ предложено (*Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома Определение случая заболевания для сообщения в ВОЗ Временное определение случая заболевания 14 июля 2015*) следующее стандартное определение случаев БВРС.**

#### **Подтвержденный случай**

Человек с лабораторно подтвержденной инфекцией БВРС-коронавирус, независимо от клинических признаков и симптомов.

#### **Вероятный случай**

Лихорадочное острое респираторное заболевание с клиническим, рентгенологическим или гистологическим подтверждением легочной паренхиматозной болезни (например, пневмонии или острого респираторного дистресс-синдрома) **И** *прямая эпидемиологическая связь*<sup>1</sup> с подтвержденным случаем БВРС-КоВ **И** тестирование на БВРС-КоВ невозможно, является отрицательным на одном *неадекватном образце*<sup>2</sup> или *неокончательным*<sup>3</sup>.

Лихорадочное острое респираторное заболевание с клиническим, рентгенологическим, гистологическим подтверждением легочной паренхиматозной болезни (например, пневмонии или острого респираторного дистресс-синдрома) **И** человек, проживающий на Ближнем Востоке или совершивший поездку на Ближний Восток, или проживающий в стране с известной циркуляцией БВРС-КоВ среди одногорбых верблюдов, или же в районе, где недавно произошли инфекции людей **И** тестирование на БВРС-КоВ является неокончательным.<sup>3</sup>

Острое лихорадочное респираторное заболевание любой степени тяжести **И** прямая эпидемиологическая связь с подтвержденным случаем БВРС-КоВ **И** тестирование на БВРС-КоВ является неокончательным.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> *Прямая эпидемиологическая связь с подтвержденным случаем БВРС-КоВ может включать:*

- Воздействие, связанное с оказанием медицинской помощи, включая оказание непосредственной помощи больным с БВРС-КоВ, с медработниками, инфицированными БВРС-КоВ, с посещением больных или с нахождением в замкнутом пространстве вместе с человеком, инфицированным БВРС-КоВ.
- Совместную работу в непосредственной близости или нахождение в одном помещении с людьми, инфицированными БВРС-КоВ.
- Совместные поездки с людьми, инфицированными БВРС-КоВ, на любом виде транспорта.
- Проживание в том же домашнем хозяйстве, что и люди, инфицированные БВРС-КоВ.
- Эпидемиологическая связь может возникнуть в течение 14-дневного периода до или после наступления болезни у рассматриваемого случая.

<sup>2</sup> *Неадекватные образцы* включают мазок из носоглотки без сопровождающего образца из нижних дыхательных путей, образец, с которым неправильно обращались, который был признан низкокачественным лабораторией, проводящей тестирование, или образец, взятый слишком поздно в ходе болезни.

<sup>3</sup> *Неокончательные тесты* могут включать:

- положительный результат скрининга на одной мишени ПЦР-РВ без последующего подтверждения;
- подтверждение с помощью одного образца сыворотки, взятой в фазе выздоровления, в идеале не позднее чем через 14 дней после скринингового исследования (ELISA, или ИФА) и пробы на нейтрализацию, в отсутствие молекулярного подтверждения на респираторных образцах.

ВОЗ предложено (*Глобальный эпиднадзор за случаями инфекции человека, вызванной новым коронавирусом (2019-нCoV) Временные рекомендации 31 января 2020*) следующее стандартное определение случаев COVID-19:

**Подозрительный на инфекцию, вызванную 2019-нCoV, случай**

**А.** Наличие проявлений тяжелой острой респираторной инфекции (лихорадка, кашель, при этом требуется госпитализация) **И** отсутствие других этиологических факторов, которыми в полной мере объяснялась бы клиническая картина, **А ТАКЖЕ** анамнез поездки или пребывания в КНР в предшествующие 14 дней до появления симптомов,

**ИЛИ**

**В.** Наличие любых тяжелых проявлений патологии дыхательной системы **И** по меньшей мере одного из следующих фактов эпидемиологического анамнеза в предшествующие 14 дней до появления симптомов:

а) наличие контактов с лицами, у которых установлен вероятный или подтвержденный случай инфекции 2019-нCoV; **или**

б) имеется анамнез работы или посещения лечебного учреждения, где находились пациенты с подтвержденными или вероятными случаями инфекции 2019-нCoV.

**Вероятный случай инфекции**

Вероятный случай инфекции: подозрительный случай, при котором результаты тестирования на инфекцию, вызванную 2019-нCoV, сомнительны (*под сомнительным подразумевается результат, сформулированный так в лабораторном заключении*), либо имеются положительные результаты теста на определение всех видов семейства коронавирусов в отсутствие лабораторного подтверждения наличия других респираторных патогенов.

**Подтвержденный случай инфекции**

Наличие лабораторного подтверждения инфекции, вызванной 2019-нCoV, независимо от клинических проявлений и симптомов.

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330857/WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2020.3-rus.pdf>

После появления в широком доступе диагностических тест-систем диагноз подтверждается лабораторно.

**Клинические симптомы ТОРС (SARS -атипичной пневмонии).** У пациентов наблюдали трехфазный характер заболевания (Peiris и др., 2003а). Первоначально чаще всего у пациентов регистрировали лихорадку, сухой кашель, ангину и головные боли, затруднение дыхания регистрировали в более поздние сроки (7-14 сутки болезни). Во время второй фазы болезни возникает одышка и гипоксия на фоне продолжающейся лихорадки, часто сопровождается поносом. У части пациентов развивается острый респираторный дистресс синдром (3-я фаза), часто требующий подключения больного к аппарату ИВЛ примерно к 3-й неделе заболевания. Летальный исход заболевания может быть зарегистрирован уже на четвертый день, но есть случаи регистрации смерти через 108 дней после начала заболевания. Выделение вируса из дыхательных путей, как правило, достигает максимума на 10-е сутки. Вирус практически всегда

также находили в фекалиях. Антитела IgG выявлялись к 10-15-м суткам, и после их появления вирусемия снижалась. Тяжесть заболевания коррелировала с увеличением возраста, при этом смертность достигала 50% для пациентов старше 60 лет.

При вскрытии пациентов наблюдалось диффузное повреждение альвеол. В легких у пациентов, которые умерли на ранних стадиях заболевания, регистрировались образования гиалиновых мембран, отеки, фибриновый экссудат, тромбы мелких сосудов, потеря и отслоение пневмоцитов и смешанный клеточный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов, макрофагов и полиморфноядерных лейкоцитов. На более поздних стадиях заболевания гистологическая картина проявлялась в виде пневмонита, пневмоцитоз, плоскоклеточная метаплазия и бронхиолит. Связь прогрессирования заболевания с уменьшением вирусной нагрузки и существенное повышение уровня цитокинов свидетельствуют о том, что тяжелые повреждения легких носили в основном иммунопатологический характер. (Weiss S.R., Leibowitz J.L. Coronavirus Pathogenesis// *Advances in Virus Research*, 2011, Volume 81, p. 85-164.)

**Клинические симптомы БВРС** не являются специфичными и похожи на другие инфекции дыхательных путей. Клиническая картина заболевания включает в себя широкий спектр проявлений: от бессимптомной инфекции до легкого, умеренного и тяжелого заболевания, часто осложненного тяжелой пневмонией, острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), септическим шоком и полиорганной недостаточностью. Незначительное число случаев могут проходить с низкой температурой, ознобом, насморком, сухим кашлем, болью в горле и миалгией. У некоторых пациентов проявляются желудочно-кишечные симптомы, такие как тошнота, рвота и диарея. Лихорадка может отсутствовать в 15% случаев госпитализации. Лабораторные исследования выявляют цитопению и повышенный уровень трансаминазы. До половины случаев могут иметь острое повреждение почек, а у трети – серьезные поражения желудочно-кишечного тракта. В тяжелых случаях болезнь может вызвать дыхательную недостаточность, которая требует искусственной вентиляции легких и поддержки в отделении интенсивной терапии. Существует реальная угроза быстрого (до 2 дней) развития ОРДС и мультиорганной недостаточности. Коронавирус MERS вызывает более тяжелые заболевания у пожилых людей, людей с ослабленной иммунной системой и у людей с хроническими заболеваниями почек, легких, а также у онкологических больных и больных диабетом (Esam I. Azhar, David S.C. Hui, Ziad A. Memish, Christian Drosten, Alimuddin Zumla. The Middle East Respiratory Syndrome (MERS) *Infect Dis Clin N Am* 33 (2019) 891–905 <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.001>)

**Клинические особенности COVID-19** варьируют от бессимптомного состояния до острого респираторного дистресс-синдрома и полиорганной дисфункции. Теоретически рассчитанная 50%-ная инфицирующая доза может составлять примерно 50 вирионов. Общие клинические признаки включают лихорадку – повышение температуры (не во всех случаях), кашель, усталость, одышку, боль в горле, головную боль, рвоту, диарею. Конъюнктивит также был описан. Таким образом, они симптоматически неотличимы от других респираторных инфекций. У некоторых пациентов к концу первой недели заболевание может прогрессировать до пневмонии, дыхательной недостаточности и смерти. Это прогрессирование связано с чрезмерным увеличением количества воспалительных цитокинов, включая IL2, IL7, IL10, GCSF, IP10, MCP1, MIP1A и TNF $\alpha$ . Среднее время от появления симптомов до одышки составляло 5 дней, госпитализация – 7 дней, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – 8 дней. Потребность в интенсивной терапии была отмечена у 25-30% больных в опубликованных статьях. Наблюдаемые серьезные осложнения включали острое повреждение легких, ОРДС, шок и острое повреждение почек. Восстановление начиналось на 2-й или 3-й неделе после начала заболевания. Средняя продолжительность пребывания в стационаре у тех, кто выздоровел, составила 10 дней.

Неблагоприятные исходы и смерть чаще встречаются у пожилых людей и лиц с сопутствующими заболеваниями (50-75% смертельных случаев). Летальность у госпитализированных взрослых пациентов колебалась от 4 до 11%. По оценкам, общий коэффициент смертности от 2 до 3% (Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020;87(4):281-286. doi:10.1007/s12098-020-03263-6).

Клинические проявления коронавирусных инфекций, вызываемых вирусами SARS, MERS и SARS-CoV-2

Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med.* 2020;28(2):174-184

	<b>SARS</b>	<b>MERS</b>	<b>SARS-CoV-2</b>
<b>Клиническая эпидемиология:</b>			
-Количество заболевших	8 098	2 499	71 704 885
-Количество погибших	744	861	1 605 017
-Летальность	10%	35%	6%
-Инкубационный период	2-7 сут	5-6 сут	7-14 сут
Клетки органов, наиболее восприимчивых к заражению	Дыхательных путей; почек; печени	Дыхательных путей; кишечного тракта; мочеполовых путей; печени, почек, нейроны; моноциты; Т-лимфоциты, а также гистиоцитарные клеточные линии	Дыхательных путей; почек; печени, пищевода, мочевого пузыря, подвздошной кишки, сердца, ЦНС
<b>Клиническая картина заболевания</b>			
Средний возраст	39.9 (1-91) лет	53 (36-66) года	47 (все возраста) лет
Соотношение мужчины:женщины	1.0 : 1.25	2.03 : 1.0	1.39 : 1.0
Лихорадка	99 - 100%	77 ± 6%	88,7%
Усталость	31,2%	-	29,4%
Кашель	25 - 75%	70 ± 5%	67,7%
Отхаркивание мокроты	не зарегистрировано	нет данных	13.3%
Головная боль	49.3 – 60,9%	нет данных	14.8%
Затруднение дыхания, одышка	40-42%	нет данных	45.6%

Ангина	12.5%	39 ± 11%	13,9%
Диарея	20 - 25%	10 – 20%	6.1%
Тошнота и / или рвота	19.4 – 19.6%	нет данных	5.0%
Головокружение	4.2 – 42.8%	нет данных	3.7%
Головная боль	35.4 – 55.8%	нет данных	8.0 %

## **Животные модели коронавирусов**

Коронавирусы могут реплицироваться во многих видах животных, включая свиней, крупный рогатый скот, лошадей, верблюдов, кошек, собак, грызунов, птиц, летучих мышей, кроликов, хорьков, норок, змей и других диких животных. Для многих животных заболевания являются субклиническими. Если вопрос о природном резервуаре опасных для человека вирусов SARS и MERS в настоящее время считается решенным, то происхождение нового коронавируса SARS-CoV-2 активно дискутируется. Одним из методов определения родственных связей является исследование относительного смещения синонимических кодонов (RSCU - relative synonymous codon usage). Метод был применен для определения потенциального природного хозяина нового коронавируса SARS-CoV-2.



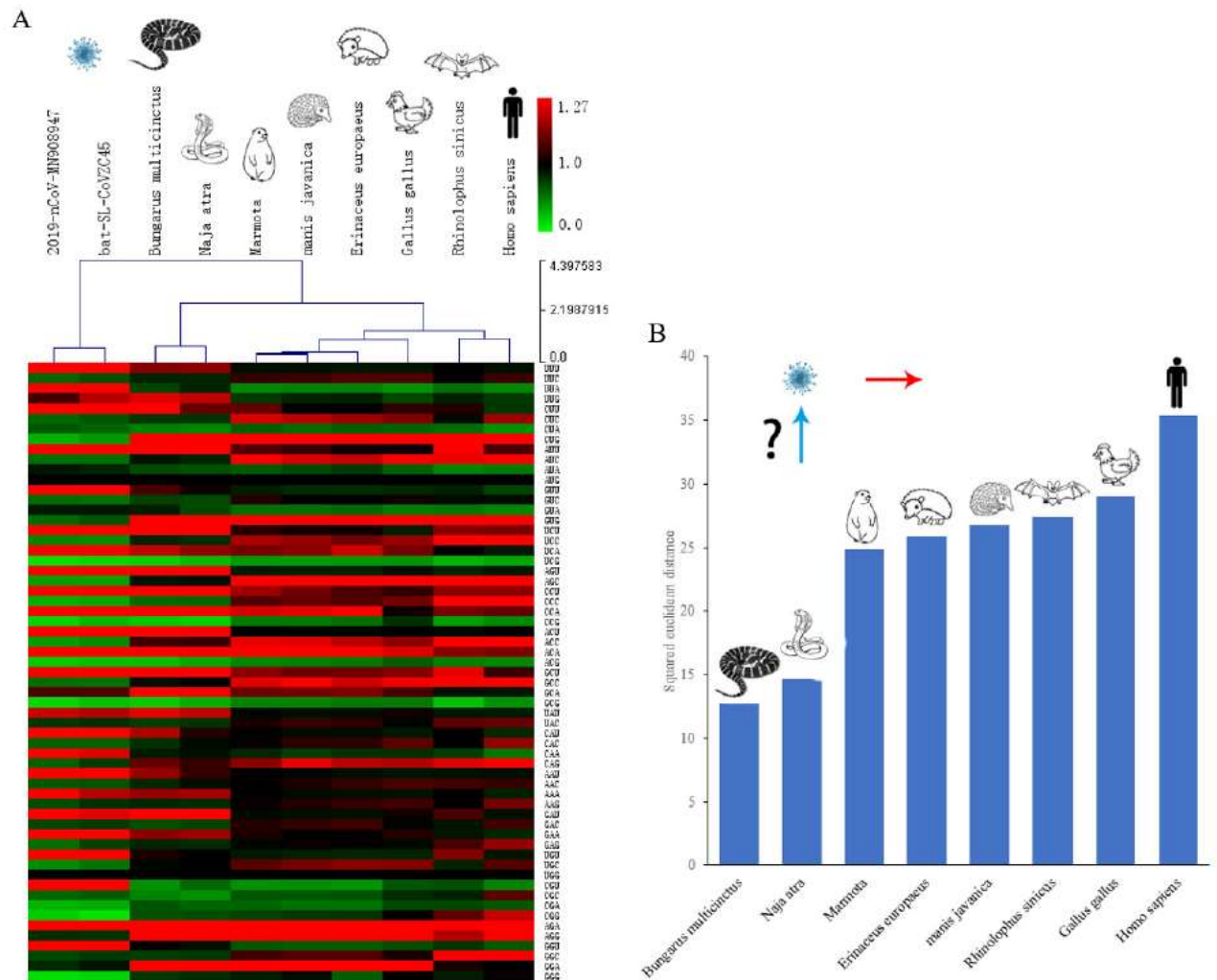


Рис. 22. Сравнение относительного использования синонимичных кодонов (RSCU) между 2019-нCoV и его предполагаемым резервуаром (-ами) диких животных. А. Тепловая карта, полученная в результате кластерного анализа RSCU между вирусами 2019-nCoV, bat-SL-CoVZC45, *Bungarus multicinctus*, *Naja atra*, *Marmota*, *Erinaceus europaeus*, *manis javanica*, *Rhinolophus sinicus*, *Gallus gallus*, *Homo sapiens*. Б. Сравнение квадрата евклидова расстояния (рассчитывался на основе RSCU) между 2019 нCoV и различными видами животных (Wei Ji, Wei Wang, Xiaofang Zhao et al. Homologous recombination within the spike glycoprotein of the newly identified coronavirus may boost cross-species transmission from snake to human// Journal of Medical Virology, 2020, 92(4) DOI: 10.1002/jmv.25682)

Другое исследование показало, что панголины могут быть потенциальными промежуточными хозяевами (Lam T.T.-Y., Shum M.H.-H., Zhu H.-C. 2020. Identification of 2019-nCoV related coronaviruses in Malayan pangolins in southern China. bioRxiv preprint 2020:epub).

**Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS, атипичная пневмония).** Самые ранние случаи атипичной пневмонии в провинции Гуандонг (Китай) были зарегистрированы у работников, продающих на рынках диких животных. Последующие исследования диких животных, взятых в исследование с этих рынков, показало наличие коронавируса SARS у пальмовых циветт (*Paguma larvata*) и енотовидных собак (*Nyctereutes procyonoides*). Более продолжительное время выделения коронавируса было обнаружено у пальмовых циветт. Кроме этого, среди поставщиков продуктов питания в ресторанах, в которых подают мясо циветт, было

зарегистрировано больше случаев заболевания. Сравнение последовательностей геномов штаммов коронавируса SARS, выделенных из циветт, с последовательностями штаммов, выделенных от заболевших, подтвердило передачу вируса от этих животных к людям (Hu et al., 2003; Song et al., 2005; Yeh et al., 2004). Последующее открытие SARS-подобных коронавирусов у летучих мышей *Rhinolophus sinicus* с приблизительно 90% идентичностью последовательностям выделенного от человека вируса позволяет с большой вероятностью предположить, что этот или родственный ему вид летучих мышей, вероятно, и является источником ТОРС-коронавируса (Lau et al., 2005; Li et al., 2005b).

Сравнение последовательностей геномов высокопатогенных изолятов вируса SARS, выделенных во время эпидемии атипичной пневмонии 2002-2003 гг. (например, TOR-2 или Urbana), с последовательностями геномов коронавирусов, выделенных от людей с более легким течением заболевания 2003 года, а также выделенных от циветт и енотовидных собак в начале эпидемии и выделенных от летучих мышей, показали, что различия составляют всего одну или две аминокислоты (N479 и T487) в S белке, за исключением известной делеции в нем же. Эти изменения, вероятно, были ответственны за адаптацию вируса SARS к человеку. Большинство вирусов, выделенных из пальмовых циветт, кодируют K479, и рецептор-связывающий домен вируса становится совместим с рецептором клеток пальмовой циветты ACE2. Мутация N479 приводит к совместимости рецептор-связывающий домен вируса с рецептором клеток человека. Вирусы, изолированные от более легких случаев SARS-коронавирусной инфекции у людей в 2003-2004 годах, кодируют S487, и одинаково эффективно связываются с рецепторами клеток пальмовых циветт и человека. Эти изоляты менее эффективно связываются с ACE-2 человека, чем содержащие мутацию T487, связанную с более патогенными изолятами человека.

Для выделения коронавирусов используют культуры клеток Vero, Vero E6, NCI-H292, FRhk – 4, 4647, 293, Л-68. При культивировании штамма Франкфурт 1 вируса SARS (любезно предоставленный Dr. H.W. Doerr, Институт медицинской вирусологии, Франкфурт-на-Майне, Германия) отмечено, что характер поражения монослоя различался в зависимости от линии клеток. В культурах клеток Vero и 4647 при множественности заражения 1:10 на 2-е и 3-и сутки после заражения, соответственно, происходило округление клеток и сползание монослоя. При культивировании вируса на клетках 293 и Л-68 изменения монослоя выявлялись на 3-и сутки и проявлялись в виде разрушения монослоя – наблюдался локальный лизис клеток (Агафонов А.П., Гуськов А.А., Терновой В.А., Рябчикова Е.И., Дурыманов А.Г., Виноградов И.В., Максимов Н.Л., Игнатьев Г.М., Нечаева Е.А., Нетесов С.В. Первичная характеристика ТОРС-коронавируса штамм Франкфурт 1// Докл. Акад. Наук, 2004.- том 394.- №4.- Стр. 58-60.).

Ряд животных моделей был разработан во время и после вспышки атипичной пневмонии. К ним относятся модели нечеловеческих приматов: макаки *M. fascicularis* и *M. mulatta*, африканские зеленые обезьяны (*Cercopithecus atheiops* или *Chlorocebus sabeus*), мартышки (*Callithrix jacchus*). Хотя в дыхательных путях всех этих видов после заражения обнаруживают репликацию ТОРС-коронавируса, у них развивается относительно легкая болезнь. ТОРС-коронавирус также способен заражать кошек (*Felis domesticus*) и хорьков (*Mustela furo*) (Martina et al., 2003), но инфекция не приводит к тяжелому заболеванию.

ТОРС-коронавирус размножается в течение короткого периода времени в дыхательных путях молодых мышей BALB/c, достигая значительных титров в легких, но не вызывает значимых патологических изменений и не приводит к заболеванию. Аналогично болезни у людей, чем больше возраст инфицированных коронавирусом мышей линии BALB/c, тем более тяжелое заболевание у них развивается: более высокие титры вируса в легких, более явные клинические признаки заболевания и четкие гистологические изменения интерстициального пневмонита с

альвеолярным повреждением – аналогичным наблюдаемым у человека при SARS (Roberts et al., 2005a). В отличие от мышей BALB/c 4–6-недельного возраста, мыши возрастом 12–14 месяцев имели повышенные уровни IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  на ранней стадии инфекции, что свидетельствует о высоком уровне провоспалительных цитокинов и способствуют более тяжелой болезни. Коронавирус SARS инфицирует мышей линий C57BL6 (B6), 129SvEv.

Заражение сирийских хомячков коронавирусом SARS приводило к острому интерстициальному пневмониту и поражению печени (что обычно не наблюдается при коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS у человека) без клинических проявлений, вирус полностью исчезал из организма хомячков к 14 дню (Roberts et al., 2005b).

Известно, что коронавирусы содержат белок эстераза-гемагглютинин, придающий вирусу свойство агглютинировать эритроциты различных видов животных. Штамм Франкфурт 1 вируса SARS-CoV-1 агглютинировал эритроциты человека, крысы, морской свинки, слабо агглютинировал эритроциты мыши (линия BALB/c) и не агглютинировал эритроциты обезьяны (*Macaca mulatta*), петуха, гуся, барана (Агафонов А.П., Гуськов А.А., Терновой В.А., Рябчикова Е.И., Дурьманов А.Г., Виноградов И.В., Максимов Н.Л., Игнатьев Г.М., Нечаева Е.А., Нетесов С.В. Первичная характеристика ТОРС-коронавируса штамм Франкфурт 1// Докл. Акад. Наук, 2004.- том 394.- №4.- Стр. 58-60.).

### **Ближневосточный респираторный синдром (БВРС, MERS)**

Для выделения коронавируса MERS-CoV используют культуры клеток Vero, Vero E6, NCI-H292, FRhK – 4, 4647, 293, Л-68.

Коронавирус MERS-CoV вызывает у макак-резусов кратковременную легочную инфекцию. На рентгенограммах грудной клетки животных выявляются локализованные инфильтрационные и интерстициальные поражения. Клиническая болезнь связана с вирусной репликацией в пневмоцитах вокруг терминальных бронхиол, подтвержденной ПЦР и обнаружением вирусных антигенов в альвеолярных пневмоцитах методом иммуногистохимии. Клинические симптомы на модели мартышек, мармозеток были гораздо более серьезными: у животных наблюдали бронхоинтерстициальную пневмонию, и титры вируса в легких были на 3 порядка выше, чем у макак-резусов. В хорьках коронавируса MERS-CoV не реплицируется.

## COVID-19

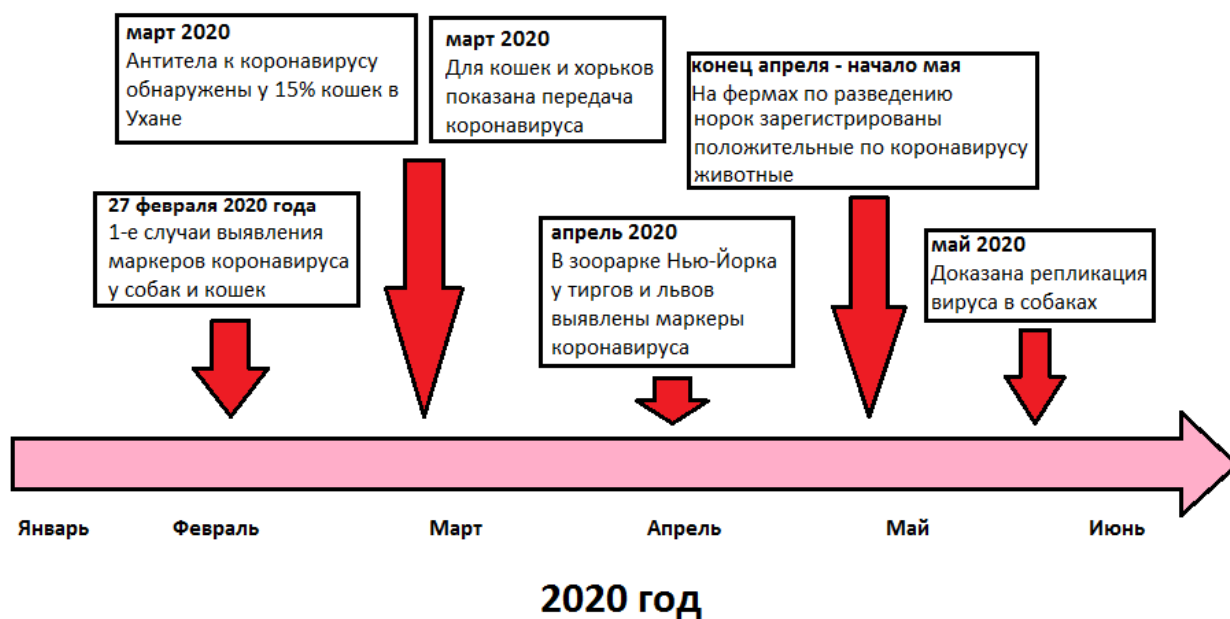


Рис. 23. Методом ПЦР было проанализировано наличие коронавируса SARS-CoV-2 у домашних животных – 8 кошек, 1 морской свинки, 2 кроликов и 12 собак, живущих с больными COVID-19. Генетический материал (PHK) коронавируса SARS-CoV-2 был выявлен только у 1 кошки, клинические признаки заболевания у животного обнаружены не были. (Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: A case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. Ignacio Ruiz-Arrondo, Aranzazu Portillo, Ana M. Palomar, Sonia Santibanez, Paula Santibanez, Cristina Cervera, Jose A. Oteo medRxiv, 2020.05.14.20101444; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.14.20101444/>)

Исследователями из КНР было обнаружено, что кошки могут выделять вирус и передавать его воздушно-капельным путем. Три кошки были интраназально заражены коронавирусом SARS-CoV-2 и помещены в отдельные клетки внутри изолятора. Чтобы изучить возможность передачи вируса, рядом с клетками, в которых содержались зараженные кошки, поместили клетку с незараженной кошкой. Вирус заразил контактную кошку и был обнаружен в клетках носовой полости, мягкого нёба, миндалинах, легком и трахее в титрах до  $6 \text{ lg BOE/г}$  органа. Фрагменты вирусной РНК методом РТ-ПЦР были обнаружены в тонкой кишке, но инфекционного вируса выделить не удалось. В этой же работе были подтверждены данные о чувствительности хорьков к коронавирусу SARS-CoV-2. Кроме этого заражению подвергались собаки, свиньи, куры и утки. Пять 3-месячных собак породы бигль были интраназально заражены дозой вируса  $10^5 \text{ BOE/животное}$  и помещены с двумя незараженными собаками той же породы в комнату. Ротоглоточные и ректальные мазки от каждого бигля собирали на 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 14 день для выявления вирусной РНК и титрования вируса в клетках Vero E6. Вирусная РНК была обнаружена в ректальных мазках двух собак, инокулированных вирусом, на 2-й день и в ректальных мазках одной собаки на 6-й день. Инфекционный вирус не был обнаружен ни у одной из контактных с зараженными собаками особей. Сыворотки у всех собак были собраны на 14 сутки после заражения и исследованы на наличие специфических антител в ИФА. У 2 зараженных вирусом собак антитела были обнаружены; две другие зараженные собаки и две контактные собаки были

серонегативными в отношении SARS-CoV-2. Эти результаты показывают, что собаки имеют низкую восприимчивость к SARS-CoV-2.

По такой же схеме была исследована восприимчивость свиней, кур и уток к SARS-CoV-2, однако вирусная РНК не была обнаружена ни в одном из образцов, собранных от каждого из зараженных или контактных животных, и все животные были серонегативными в отношении SARS-CoV-2 при тестировании в ИФА с использованием сывороток, собранных на 14 сутки после заражения. Эти результаты показывают, что свиньи, цыплята и утки не восприимчивы к SARS-CoV-2. (Jianzhong Shi<sup>1\*</sup>, Zhiyuan Wen<sup>1\*</sup>, Gongxun Zhong<sup>1\*</sup>, Huanliang Yang<sup>1\*</sup>, Chong Wang<sup>1\*</sup>, Renqiang Liu<sup>1</sup>, Xijun He<sup>2</sup>, Lei Shuai<sup>1</sup>, Ziruo Sun<sup>1</sup>, Yubo Zhao<sup>1</sup>, Libin Liang<sup>1</sup>, Pengfei Cui<sup>1</sup>, Jinliang Wang<sup>1</sup>, Xianfeng Zhang<sup>2</sup>, Yuntao Guan<sup>2</sup>, Hualan Chen<sup>1†</sup>, and Zhigao Bu<sup>1,2†</sup> **Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and different domestic animals to SARS-coronavirus-2** // *Science* 29 May 2020: Vol. 368, Issue 6494, pp. 1016-1020. DOI: 10.1126/science.abb7015)

## Лечение коронавирусных инфекций

Коронавирусы человека OC43, HKU1, NL63 и 229E, как правило, не требуют медикаментозного вмешательства, кроме симптоматического лечения. Для инфекций, вызываемых коронавирусами SARS-CoV-1, MERS-CoV и SARS-CoV-2, врач определяет схемы лечения, исходя из тяжести течения заболевания и имеющихся в распоряжении терапевтических средств.

Оценка летальности COVID-19 первоначально сильно варьировала: от 0,17% до 17. В статье (Baud et al. 2020), опубликованной в журнале «The Lancet», показано, что показатель летальности может достигать 20%. В начале марта 2020 года Генеральный директор ВОЗ заявил, что показатель летальности для SARS-CoV-2 составил 3,4%. Он добавил: «Для сравнения, сезонный грипп, как правило, убивает гораздо меньше, чем 1% от всех инфицированных». Когда собралось гораздо больше данных, то оценки уровня летальности значительно снизились, потому что знаменатель вырос из-за увеличения количества тестирований и выявлений бессимптомных лиц. В Исландии 12% населения прошли тестирование с использованием тестов на основе ОТ-ПЦР независимо от симптомов, просчитанная летальность составила 0,55%. Центр доказательной медицины при Оксфордском университете (Center for Evidence-Based Medicine at the University of Oxford) отметил, что если предположить, что инфицирован 1% населения Исландии, то соответствующий показатель смертности от инфекций составит 0,03%. Исследование с использованием как RT-PCR, так и серологических тестов, проведенных в одном из наиболее затронутых COVID-19 регионов Германии, показало, что коэффициент летальности (case fatality rate – CFR) составил 0,37% (Streeck et al. 2020). Различия могут показать, что системы здравоохранения некоторых стран могут справляться с кризисом лучше, чем другие. Недостаточное финансирование, недоукомплектованность, чрезмерное приватизирование и разрушение системы здравоохранения способствуют более высокому уровню смертности (Adams 2020)

(Carlo Caduff. What Went Wrong: Corona and the World after the Full Stop// [https://www.academia.edu/42829792/What\\_Went\\_Wrong\\_Corona\\_and\\_the\\_World\\_after\\_the\\_Full\\_Stop?auto=download&email\\_work\\_card=download-paper](https://www.academia.edu/42829792/What_Went_Wrong_Corona_and_the_World_after_the_Full_Stop?auto=download&email_work_card=download-paper))

Подобно вирусу SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 использует белок S (spike) для проникновения в клетки, который связывается с рецептором ACE2. Таким образом, рецептор-связывающий домен (RBD) в белке S может являться хорошей мишенью для нейтрализующих антител. Поскольку S-белок SARS-CoV-2 демонстрировал высокую гомологию с таковым у вируса SARS-CoV-1, было

обнаружено, что имеющееся нейтрализующее антитело CR3022, полученное против вируса SARS-CoV-1, эффективно связывается с RBD SARS-CoV-2. Однако недавние исследования показали, что более 85% эпитопов RBD в SARS-CoV-2 изменены по сравнению с эпитопами RBD вируса SARS, что указывает на необходимость разработки новых моноклональных антител к SARS-CoV-2. Кроме того, было высказано предположение, что заражение коронавирусом SARS-CoV-2 зависит не только от взаимодействия белка S с ACE2, но и от клеточной сериновой протеазы хозяина TMPRSS2 (Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. 4 March 2020, posting date SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.). Мезилат камостата, клинически доказанный ингибитор TMPRSS2, одобренный для применения в Японии, подавлял инфицирование клеточной линии легких коронавирусом SARS-CoV-2. Кроме того, есть сообщения, что производные от HR2 пептиды (HR2P) и EK1 (модифицированный пептид OC43-HR2P) проявляют эффективную ингибирующую активность по отношению к SARS-CoV-2 и действуют как ингибиторы слияния / проникновения. (Li H, Zhou Y, Zhang M, Wang H, Zhao Q, Liu J. Updated Approaches against SARS-CoV-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6):e00483-20. Published 2020 May 21. doi:10.1128/AAC.00483-20.

Кроме этого, было высказано предположение, что при проникновении коронавируса в клетку реализуется рецептор- и pH-зависимый эндоцитоз. Ориентация на эндоцитоз может быть еще одним вариантом борьбы с SARS-CoV-2. AP-2-ассоциированная протеинкиназа 1 (AAK1) регулирует клатрин-опосредованный эндоцитоз. Среди одобренных препаратов есть AAK1-связывающий препарат (baricitinib), как ожидается, он может быть подходящим препаратом-кандидатом для лечения COVID-19 (Li H, Zhou Y, Zhang M, Wang H, Zhao Q, Liu J. Updated Approaches against SARS-CoV-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6):e00483-20. Published 2020 May 21. doi:10.1128/AAC.00483-20.).

Многие противовирусные агенты были разработаны против вирусных протеаз, полимераз, метилтрансфераз и др., например, ремдесивир (регистрационный номер ClinicalTrials № NCT04252664 и NCT04257656), фавипиравир (регистрационный номер китайского клинического испытания № ChiCTR2000029600 и ChiCTR2000029544), ASC09 (ChiCTR200002909onCirRTRICROPTRICRICRUSC), ChiCTR2000029468 и ChiCTR2000029539) и арбидол (ChiCTR2000029621). Ремдесивир является монофосфорамидатным пролекарством аналога аденозина. Его активная форма может включаться в возникающую вирусную РНК благодаря активности РНК-зависимых РНК-полимераз, что сразу же вызывает остановку синтеза РНК. Лопинавир и ритонавир являются ингибиторами протеаз, и по идее должны были ингибировать основную протеиназу коронавируса (3C-подобная протеаза; 3CLpro). 3CLpro отвечает за обработку продукта трансляции полипептида из геномной РНК в белковые компоненты.

Высокопроизводительный скрининг также использовался для скрининга низкомолекулярных лекарств, нацеленных на вирусную основную протеазу. Четыре молекулы, в том числе prulifloxacin, tegobuvir, bictegravir и nelfinavir, показали связывание с основной вирусной протеазой (Li H, Zhou Y, Zhang M, Wang H, Zhao Q, Liu J. Updated Approaches against SARS-CoV-2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6):e00483-20. Published 2020 May 21. doi:10.1128/AAC.00483-20.).

Предложено испытать применение новой системы нокдауна РНК CRISPR/Cas13 для расщепления геномной РНК SARS-CoV-2. Эффектор Cas13d может быть доставлен через аденоассоциированный вирус (AAV) в легкое инфицированного SARS-CoV-2 (Nguyen TM, Zhang Y, Pandolfi PP. Virus against virus: a potential treatment for 2019-nCoV (SARS-CoV-2) and other RNA viruses// Cell Res. 2020 Mar; 30(3):189-190.)

Сообщалось, что пациенты в тяжелом состоянии в отделениях интенсивной терапии имели более высокую концентрацию цитокинов в плазме, чем пациенты с легким течением заболевания COVID-19, что позволяет предположить, что цитокиновый шторм связан с тяжестью заболевания.

Ингибирование чрезмерного воспалительного ответа может представлять собой дополнительную терапию для COVID-19. Терапевтическое применение кортикостероидов при COVID-19 остается спорным, а регулярное использование систематических кортикостероидов не рекомендуется, если не указано иное по другой причине. Необходимы дополнительные исследования, чтобы узнать, как и когда правильно использовать кортикостероиды.

На рис. 24 показана схема возникновения цитокинового шторма. Патогенный микроорганизм вызывает интенсивный иммунный и воспалительный ответ, при которых происходит быстрое высвобождение большого количества цитокинов (таких как фактор некроза опухоли  $\alpha$ , интерлейкин (IL)-1, IL-6 и интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). У пациентов с вирусной инфекцией возникает острый респираторный дистресс-синдром и полиорганная недостаточность.

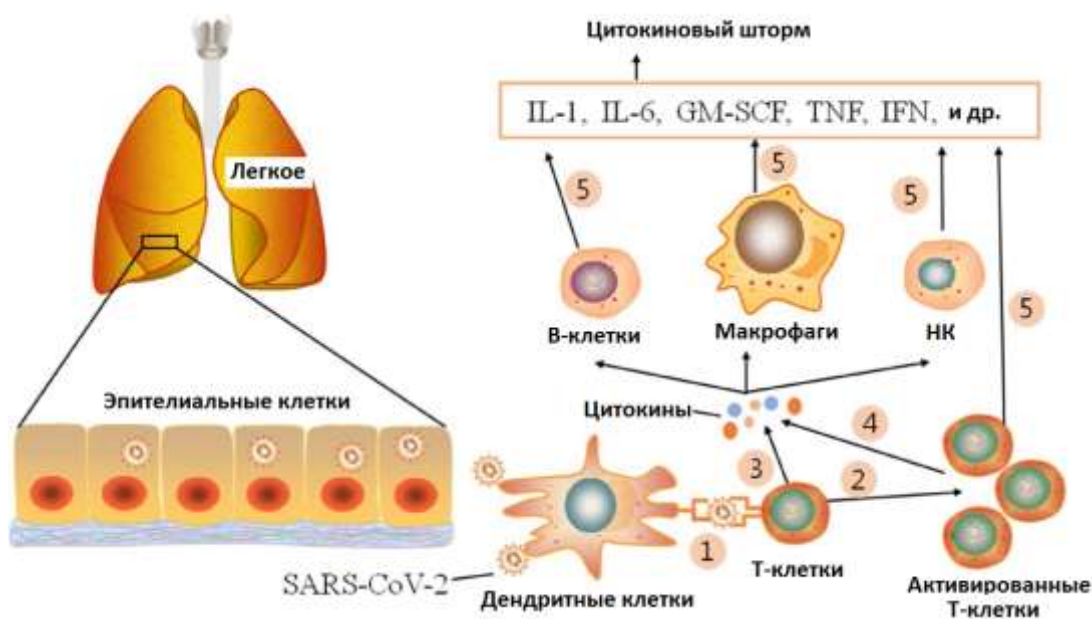


Рис. 24. Цитокиновый шторм. 1) Представление антигена SARS-CoV-2. 2) Активация и размножение Т-клетки. 3) Во время активации Т-клеток секретируется большое количество цитокинов. Происходит активация В-клеток, макрофагов и НК-клеток (натуральные киллеры –НК) этими цитокинами. 4) Активированные Т-клетки высвобождают цитокины и каскадно активируют еще больше количество В-клеток, макрофагов и НК-клеток. 5) Секреция цитокинов (Yuhao Zhang, Xiuchao Geng, Yanli Tana, Qiang Lic, Can Xua, Jianglong Xua, Liangchao Hao, Zhaomu Zenga, Xianpu Luod, Fulin Liue, Hong Wang. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system //Biomedicine & Pharmacotherapy 127 (2020) 110195, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110195>).

Цитокиновый шторм может вызвать быстрое разрушение одного или нескольких органов с крайне неблагоприятным прогнозом, если лечение не будет проведено своевременно. Экспериментальные данные показали, что SARS-CoV-2 быстро активирует Т-клетки и индуцирует высвобождение большого количества воспалительных цитокинов, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), IL-1, IL-6 и IFN- $\gamma$ . GM-CSF активирует клетки CD14<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> и моноциты, приводя к дальнейшему выделению воспалительных цитокинов, таких как IL-6. Этот процесс продолжает усиливать воспалительный каскад. Такой интенсивный иммунный ответ вызывает повреждение легких и других жизненно важных органов. Показано, что инфицирование клеток органов вирусом SARS-CoV-2, иммунный патогенез, вызванный системным цитокиновым штормом и нарушение микроциркуляции, все вместе приводит к вирусному

сепсису. Цитокиновый шторм возникает в тяжелых случаях SARS-CoV-2 и считается важным фактором риска летального исхода COVID-19 (Yuhao Zhanga, Xiuchao Gengb, Yanli Tana, Qiang Lic, Can Xua, Jianglong Xua, Liangchao Haoa, Zhaomu Zenga, Xianpu Luod, Fulin Liue, Hong Wang. New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system //Biomedicine & Pharmacotherapy 127 (2020) 110195, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110195>).

Блокирование GM-CSF или рецептора IL-6 может снизить иммунопатологию, вызванную SARS-CoV-2. Поэтому в настоящее время проводится многоцентровое рандомизированное контролируемое клиническое исследование для изучения эффективности и безопасности препарата tocilizumab (специфического к рецептору IL-6) у пациентов с COVID-19 (регистрационный номер клинических испытаний Китая № ChiCTR2000029765).

Однако, для создания препаратов на основе этих предположений необходимы дальнейшие исследования.

Защитное и терапевтическое действие плазмы реконвалесцентов проверяется (регистрационный номер клинических испытаний Китая № ChiCTR2000030010, ChiCTR2000030179 и ChiCTR2000030381).

Схема лечения атипичной пневмонии (SARS), которая была рекомендована в России (Информационный экспресс-бюллетень. Коронавирус SARS — возбудитель атипичной пневмонии (временные методические рекомендации) / Покровский В.И., Малеев В.В., Киселев О.И. и др., СПб, Москва, 2003. -56 с.):

#### **1. Противовирусные препараты:**

- рибавирин орально или внутривенно — 8-12 мг/кг каждые 8 часов 7-14 дней, озельтамивир, калетра. Вследствие относительно высокой токсичности рибавирина, его применения следует избегать в отношении лиц, имеющих дефекты иммунной системы (новорожденные, лица старше 65 лет, реципиенты органов или костного мозга, ВИЧ-положительные больные), а также лиц, проходящих курс терапии с использованием других препаратов — нуклеозидных аналогов (ацикловир, ганцикловир и т.д.). К совместному использованию рибавирина с антибиотиками и к назначению его детям следует также относиться с осторожностью;

- интерфероны: реаферон, интрон, пегинтрон;

- индукторы интерферона — циклоферон, амиксин.

**2. Кортикостероиды:** преднизолон 1-2 мг/кг в день 7 дней, гидрокортизон 4 мг/кг внутривенно каждые 8 часов 7 дней. В случае крайне тяжелого течения на фоне инфекционно-токсического шока показано внутривенное введение метилпреднизолона в дозе 10 мг/кг один раз в сутки в течение двух дней с последующей гидрокортизонотерапией по вышеуказанной схеме.

**3. Иммуноглобулины** — в/м по 3 мл противогриппозного (противокоревого) гаммаглобулина 2-3 раза в сутки курсом 3-5 дней.

**4. Антибиотики** — для предотвращения присоединения бактериальной суперинфекции, также с целью воздействия на бактерии, вызывающие пневмонии, когда окончательный диагноз еще не ясен. В очагах «атипичной пневмонии» предпочтение отдавалось антибиотиками широкого спектра действия – бета-лактамам, фторхинолонам, цефалоспорином, тетрациклином.

**5.** С целью дезинтоксикации назначается инфузионная терапия, главным образом кристаллоидными растворами.



6. При развитии респираторного дистресс-синдрома используются особые режимы искусственной вентиляции, показано интубационное, а в более легких случаях и ингаляционное введение препаратов сурфактанта. В России с этой целью возможно применение отечественного препарата – «Биосурф» в дозе 12 мг/кг.

7. В качестве симптоматической терапии больным назначаются противокашлевые и отхаркивающие средства, витамины в повышенных дозах.

В процессе интенсивной терапии необходимо контролировать состояние основных параметров гомеостаза и при необходимости применять корректирующую терапию. Обязательным является проведение кислородотерапии, даже больным, которые не нуждаются в искусственной вентиляции. Китайские врачи обращают внимание на побочные действия аспирина, применяемого в качестве жаропонижающего средства, и не рекомендуют его назначение при температуре ниже 38<sup>0</sup>С. Для поддержания достаточного мочеотделения наряду с оптимальной инфузионной терапией возможно назначение диуретиков, особенно показанных при отеке легких.

Больные могут быть выписаны из стационара при условии нормальной температуры тела в течение 7 дней, восстановления функции легких, отсутствия в них инфильтратов при рентгенологическом исследовании.

---

Следует отметить, что на практике эти рекомендации не были использованы и верифицированы, поскольку в России был выявлен только один больной с SARS-CoV-1 в 2003 году. После их разработки они были подвергнуты серьезной критике ввиду рекомендаций использования интерферона и его индукторов.

Методы специфического лечения COVID-19, подтвержденные принципами доказательной медицины на 20 августа 2020 года разработаны не были.

Компании AbbVie и Harbour BioMed (HBM), Утрехтский университет и Медицинский центр «Эразм» объявили о сотрудничестве с целью разработки совместными усилиями новой терапии на основе моноклонального антитела для профилактики и лечения COVID-19. Основное внимание партнерства будет сосредоточено на разработке нейтрализующего, полностью человеческого антитела 47D11. Это антитело прицельно воздействует на консервативный домен шиповидного белка SARS-CoV-2 (Wang, C., Li, W., Drabek, D. *et al.* A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun* **11**, 2251 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16256-y>)

Пока исследователям удалось выявить лишь два препарата, которые могут ингибировать инфекцию SARS-CoV-2 – фавипиравир (авифавир) и ремдесивир.

Результаты клинических испытаний стероида дексаметазона для лечения от COVID-19 показали, что этот препарат снижает риск смерти пациентов с COVID-19, подключенных к аппаратам ИВЛ, на 35%, а среди больных, получающих кислород, на 20%. В России для лечения COVID-19 ранее был одобрен препарат «Авифавир» на базе «Фавипиравира», Япония. Он доказал свою эффективность в клинических испытаниях. В мае 2020 года лекарство было зарегистрировано Минздравом.

Испанские медики выяснили, что короткий курс метилпреднизолона оказал благотворное влияние на клинический исход тяжелой пневмонии COVID-19, уменьшая риск комбинированной конечной точки госпитализации в ОИТ, НИВ или смерти. Одной группе пациентов в дополнение к

стандартному лечению было назначено в/в введение метилпреднизолона [40 мг/12 ч – в течение 3 суток, затем 20 мг/12 ч еще в течение 3 суток]. В группе пациентов, получающих метилпреднизолон, наблюдалось снижение уровня С-реактивного белка, гипергликемия частой. Введение метилпреднизолона снижает вероятность гибели пациентов на 45%, причем среди участников эксперимента возрастом не более 72 лет, этот показатель равнялся 90%. При этом, как отмечают исследователи, серьезных побочных эффектов от приема этого препарата они не зафиксировали, за исключением повышенного уровня сахара в крови 20% пациентов (Luis Corral, Alberto Bahamonde, Francisco Arnaiz delas Revillas, Julia Gomez-Barquero, Jesica Abadia-Otero, Carmen Garcialbarbia, Victor Mora, Ana cerezohernandez, Jose L Hernandez, Graciela Lopez-Muniz, Fernando Hernandez-Blanco, Jose M Cifrian, Jose M Olmos, Miguel Carrascosa, maria Carmen farinas, Jose A Riancho, Glucocovid investigators. A controlled trial of methylprednisolone in adults hospitalized with COVID-19 pneumonia // medRxiv 2020.06.17.20133579; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.20133579>)

Степень тяжести заболевания и схему лечения определяет только врач.

Больной должен быть под постоянным наблюдением врача, который следит за изменениями в состоянии пациента.

При развитии осложнений больного немедленно госпитализируют.

**Коронавирусная инфекция может протекать в тяжелой форме и заканчиваться летальным исходом.**

## Группы риска и осложнения

Для принятия решения относительно места лечения пациента используют шкалу CRB-65 (рис. 25) при обследовании пациента вне больницы. При госпитальном обследовании используют шкалу CURB-65 (рис. 26). Также применяют шкалу PSI/PORT.

Шкала CRB-65 является общепринятым инструментом, используемым для оценки тяжести пневмонии из-за его простоты и эффективности.

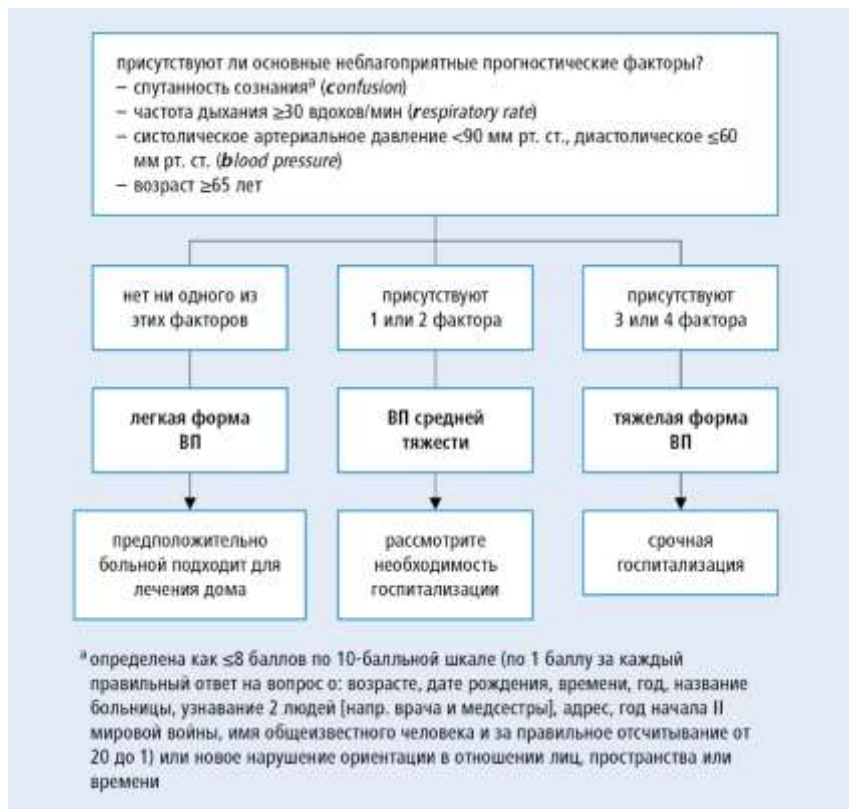


Рис. 25. Оценка тяжести внебольничной пневмонии в амбулаторных условиях – шкала CRB-65 (на основании рекомендаций BTS 2009 и NICE 2014).

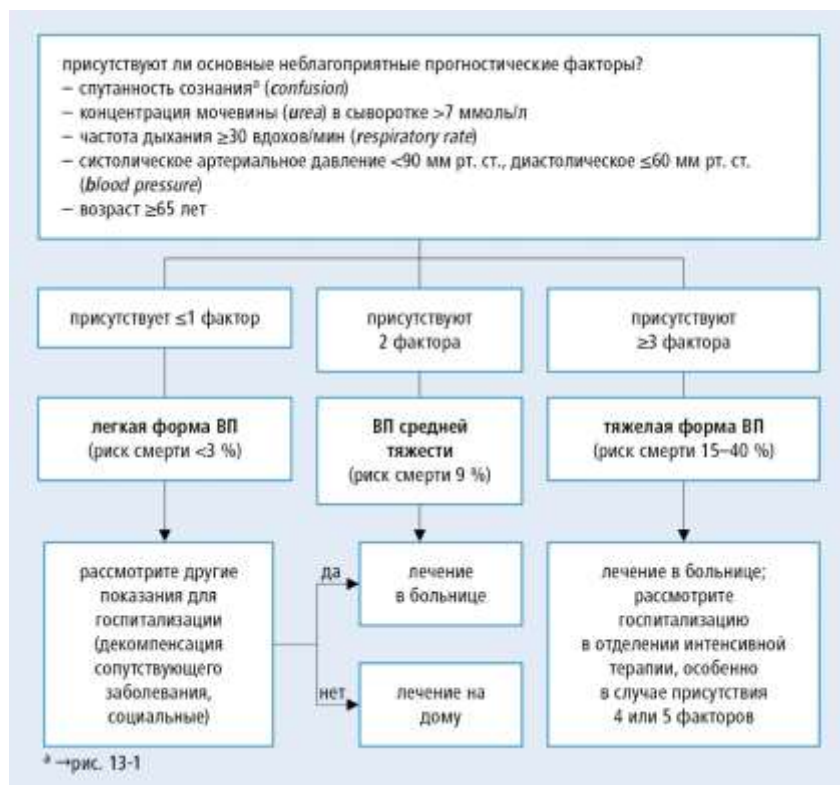


Рис. 26. Оценка тяжести внебольничной пневмонии у пациентов в больнице – шкала CURB-65 (на основании рекомендаций BTS 2009 и NICE 2014).

Обследование 138 госпитализированных пациентов с диагнозом COVID-19 показали, что в значительном числе случаев у заболевших имелись сопутствующие заболевания: у 43 человек

(31,2%) гипертония, у 14 человек (10,1%) диабет, у 20 человек (14,5%) сердечно-сосудистые заболевания и у 10 человек (7,2%) злокачественные образования (Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. Jama 2020).

Исследование 41 пациента с диагнозом COVID-19 показало, что гиперчувствительный тропонин I (hs-cTnI) был повышен у пяти пациентов с диагнозом сердечно-сосудистого заболевания. Четыре из пяти пациентов были госпитализированы в отделение интенсивной терапии, что составляет 31% от общего числа пациентов отделения интенсивной терапии. В больницу Чжуннань университета Ухань с 1 по 28 января 2020 года поступили 138 пациентов с COVID-19. Среди них наиболее часто регистрировалось одно из осложнений: гипертония или аритмия. Исследования показали, что пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями составляют значительную долю пациентов с COVID-19 (до 58,3%), госпитализированных в отделение интенсивной терапии.

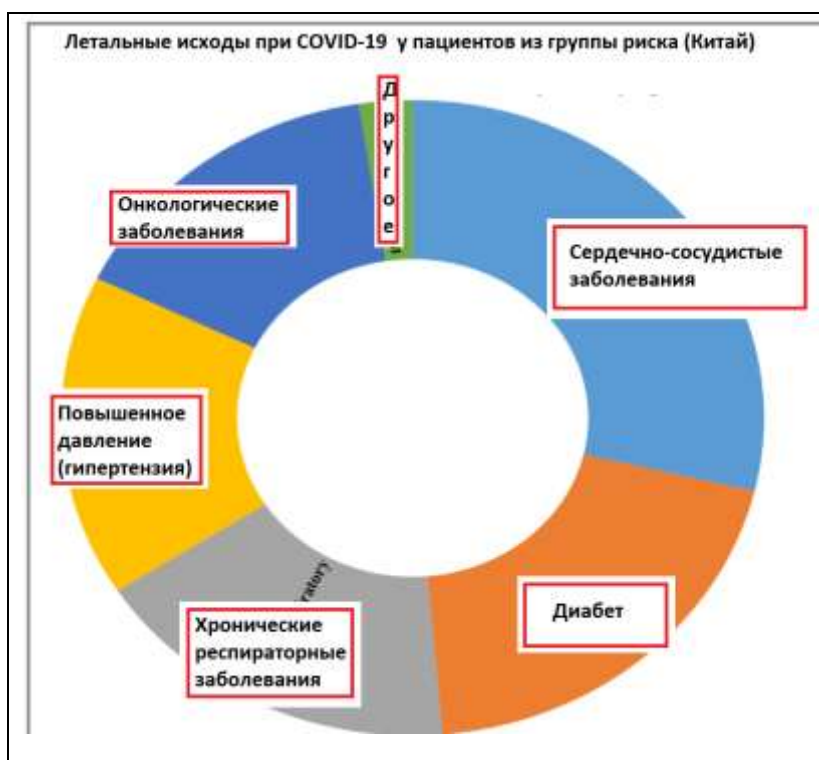


Рис. 27 . Диаграмма, иллюстрирующая уровень летальности при COVID-19, обусловленной состоянием здоровья (CFR is based on Actualización n° 67, 5th April 2020; COVID-19 in Denmark, 6th April 2020; Epidemia in Rome COVID-19, 6th April 2020; COVID-19 in Korea, 5th April 2020; Epidemiologische situatie COVID-19, 3rd April 2020; Surveillances, V., 2020].

Считается, что цитокиновый шторм, возникающий при COVID-19 (высокие уровни IL-2, IL-7, IL-10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A и TNF- $\alpha$  в плазме) может быть другой причиной повреждения сердечно-сосудистой системы. Кроме этого, пневмония, вызванная SARS-CoV-2, может привести к дисфункции дыхания и гипоксемии, что также может привести к повреждению кардиомиоцитов.

В начале эпидемии при изучении историй болезни 1590 пациентов с COVID-19 было обнаружено, что у пациентов с онкологическими заболеваниями был более высокий риск COVID-19 (1% против 0,29%) и более высокий риск тяжелого течения заболевания (39% против 8%), чем без них. Однако более поздние исследования не подтвердили этого.

Исследование историй болезни 1099 пациентов с COVID-19 показало, что частота креатинина > 133 микромоль/л и острое повреждение почек (ОПП, acute kidney injury — AKI) было 4,3 и 2,9% у тяжелых пациентов, соответственно, тогда как у пациентов с легким течением

заболевания они были только 1% и 0,1%, соответственно. Данные из другого исследования на 710 пациентах с COVID-19 показали, что 44% пациентов имеют протеинурию, гематурию, 26,9% имеют гематурию и повышенный уровень сывороточного креатинина и азота мочевины в крови (15,5% и 14,1% при поступлении). Статистические исследования подтвердили, что повышенный уровень креатинина в сыворотке, повышенный азот мочевины, ОПП, протеинурия и гематурия были независимыми факторами риска внутрибольничных летальных исходов. ACE2 высоко экспрессирован в клетках почечных канальцев, это подтверждает, что клетки почки подвергаются высокому риску инфицирования коронавирусом. (Hua Li, Zhe Liu, Junbo Ge. Scientific research progress of COVID-19/SARS-CoV-2 in the first five months // J. Cell. Mol. Med., 2020, Vol.24 (12), p. 6558-6570, <https://doi.org/10.1111/jcmm.15364>).

Высокий уровень сахара в крови удваивает вероятность гибели от тяжелых форм коронавирусной инфекции даже в том случае, если пациент не страдает от диабета или ожирения: уровень сахара FBG  $\geq 7,0$  ммоль/л при поступлении является прогностическим признаком возможного летального исхода у пациентов с COVID-19. Обследовано 605 пациентов с COVID-19, из которых 114 умерли в больнице. Многовариантный регрессионный анализ (Cox regression analysis) показал, что возраст (коэффициент риска HR 1.02 [95% CI 1.00, 1.04]), мужской пол (HR 1.75 [95% CI 1.17, 2.60]), CRB-65 балл 1-2 балла – средняя пневмония (HR 2.68 [95% CI 1.56, 4.59]), CRB-65 3–4 балла – тяжелая пневмония (HR 5.25 [95% CI 2.05, 13.43]) и FBG  $\geq 7,0$  ммоль / л (HR 2.30 [95% CI 1.49, 3.55]) были независимыми прогностическими признаками возможного летального исхода у пациентов с COVID-19 в течение 28 суток (Wang, S., Ma, P., Zhang, S. et al. Fasting blood glucose at admission is an independent predictor for 28-day mortality in patients with COVID-19 without previous diagnosis of diabetes: a multi-centre retrospective study. *Diabetologia* (2020). <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05209-1>).

Коронавирусы как и все вирусы могут проникать в ЦНС гематогенным или нейрональным ретроградным аксональным путем. Неврологические симптомы были описаны у пациентов, инфицированных коронавирусами MERS, OC43 и 229E (Algahtani, H.; Subahi, A.; Shirah, B. Neurological Complications of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: A Report of Two Cases and Review of the Literature. *Case Rep. Neurol. Med.* **2016**, 2016, 3502683; Arabi, Y.M.; Harthi, A.; Hussein, J.; Bouchama, A.; Johani, S.; Hajeer, A.H.; Saeed, B.T.; Wahbi, A.; Saedy, A.; AlDabbagh, T.; et al. Severe neurologic syndrome associated with Middle East respiratory syndrome corona virus (MERS-CoV). *Infection* **2015**, 43, 495–501; Severance, E.G.; Dickerson, F.B.; Viscidi, R.P.; Bossis, I.; Stallings, C.R.; Origoni, A.E.; Sullens, A.; Yolken, R.H. Coronavirus immunoreactivity in individuals with a recent onset of psychotic symptoms. *Schizophr. Bull.* **2011**, 37, 101–107). В обзоре (Marc Desforges 1,\* Alain Le Coupanec 1, Philippe Dubeau 1, Andréanne Bourgouin 1, Louise Lajoie 2, Mathieu Dubé 1,3 and Pierre J. Talbot 1,\* Human Coronaviruses and Other Respiratory Viruses: Underestimated Opportunistic Pathogens of the Central Nervous System? // *Viruses* 2019, 12, 14; 2-28, doi:10.3390/v12010014) собраны данные о нейропатогенных свойствах коронавирусов.

Есть данные о связи уровня кортизола со смертностью от COVID-19. Кортизол вырабатывается в организме в ответ на стресс, включая болезнь, вызывая изменения в обмене веществ, функции сердца и иммунной системе. Низкий уровень кортизола у заболевших также опасен для жизни, как и слишком высокий. (Tan, Tricia; Khoo, Bernard; Mills, Edouard G; Phylactou, Maria; Patel, Bijal; Eng, Pei C; Thurston, Layla; Muzi, Beatrice; Meeran, Karim; Prevost, A Toby; Comminos, Alexander N; Abbara, Ali; Dhillon, Waljit S Association between high serum total cortisol concentrations and mortality from COVID-19 *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2020, DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30216-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30216-3))

Ученые решили оценить этот показатель у 535 пациентов, которые поступили в больницу с подозрениями на COVID-19, у 403 из них диагноз подтвердился. Уровень кортизола замеряли в первые 48 часов с момента госпитализации.

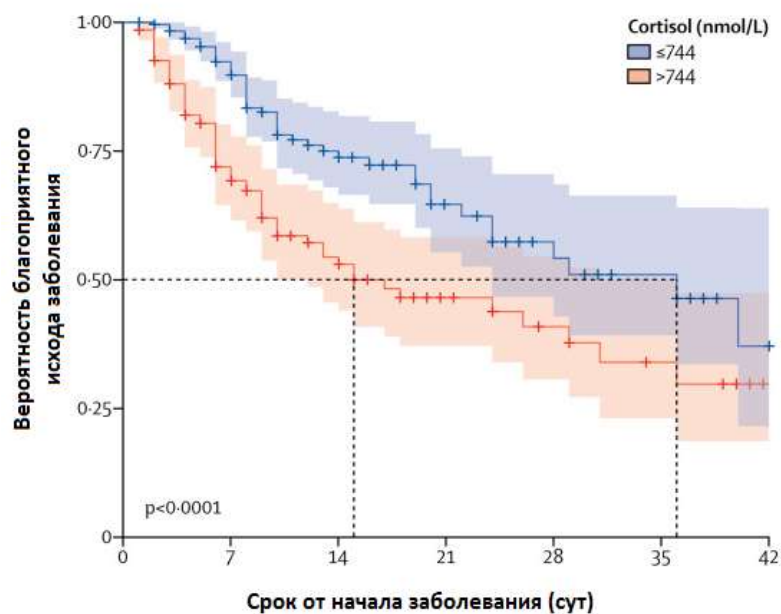


Рис. 28. Уровень кортизола у пациентов с COVID-19.

Исследования показали, что уровни кортизола у пациентов с COVID-19 были значительно выше, чем у пациентов без коронавирусной инфекции. В группе COVID-19 они достигали отметки 3241 нмоль/л. Для сравнения, даже после серьезной операции, которая является огромным стрессом для организма, уровень кортизола не превышает в среднем показатель 1000 нмоль/л. Средняя выживаемость больных COVID-19 с уровнем кортизола 744 нмоль/л и ниже составила 36 дней, а с уровнем более 744 нмоль/л – 15 дней. Всего умерло 112 человек с COVID-19 и 9 пациентов без коронавируса. При принятии решения о госпитализации пациентов с подозрениями на COVID-19 и выборе тактики лечения необходимо учитывать этот прогностический маркер.

Беременные женщины считаются группой высокого риска, в исследованиях сообщается о тяжелом проявлении COVID-19 во время беременности (Alzamora M.C., Paredes T., Caceres D., Webb C.M., Valdez L.M., La Rosa M. Severe COVID-19 during Pregnancy and Possible Vertical Transmission // *Am J Perinatol.*, 2020. doi: 10.1055/s-0040-1710050). Случаев внутриутробной передачи инфекции от матери к плоду нет, но случаи раннего инфицирования новорожденных позволяют предположить, что возможна вертикальная перинатальная передача или неонатальная передача. Описаны случаи индуцированной недоношенности и респираторной недостаточности у новорожденных от инфицированных матерей. Беременность известна как период повышенного риска последствий респираторных инфекций, например, гриппа, поэтому важно проводить скрининг на заболевание COVID-19 при наличии симптомов и внимательно следить за состоянием беременных женщин. В контексте эпидемии COVID-19 Международные общества гинекологов-акушеров, инфекционистов и неонатологов предложили французский протокол для лечения возможных и доказанных случаев COVID-19 у беременных женщин (Stockman LJ, Lowther SA, Coy K, Saw J, Parashar UD. SARS during pregnancy, United States. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(9):1689-1690. doi:10.3201/eid1009.040244).

## Дифференциальная диагностика заболевания

Постановка верного диагноза с целью своевременного начала лечения и благоприятного исхода заболевания особенно важна при заболеваниях, вызванных коронавирусом SARS-CoV-2.

COVID-19 следует отличать главным образом от других известных вирусов, вызывающих респираторные инфекции, таких как вирусы гриппа, парагриппа человека, аденовирусы, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус и др.; а также от бактериальных пневмоний, вызванных, например, микоплазмами или хламидиями. Кроме того, COVID-19 следует отличать от неинфекционных заболеваний, таких как васкулит, дерматомиозит и криптогенная организующая пневмония (Jin et al., 2020). Идентификация COVID-19 включает обнаружение вирусной нуклеиновой кислоты и, согласно традиционным постулатам Коха, выделение вируса. Для диагностики используются различные образцы, такие как ротоглоточный и носоглоточный мазки или смывы, эндотрахеальный аспират, отхаркиваемая мокрота или бронхоальвеолярный лаваж. Наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образце свидетельствует о заболевании COVID-19. Обнаружение генетического материала другого респираторного инфекционного агента без постановки анализа на коронавирус SARS-CoV-2 не может исключать COVID-19 из-за большого количества случаев микст-инфицирования.

### **Об основных различиях между симптомами коронавируса COVID-19, простудных заболеваний и гриппа**

Вспышка инфекционного заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) продолжает развиваться, и на фоне этого проводится сравнение данного заболевания с гриппом.

Обе болезни являются респираторными заболеваниями, но между этими двумя вирусами и тем, как они распространяются, есть важные различия. Это важно с точки зрения того, какие медико-санитарные меры могут быть приняты для реагирования на каждый вирус.

#### **Вопрос: Чем похожи COVID-19 и вирусы гриппа?**

Во-первых, COVID-19 и вирусы гриппа имеют сходную картину заболевания. То есть они оба вызывают респираторное заболевание, которое представляет собой широкий спектр вариантов болезни – от бессимптомного или легкого до тяжелого заболевания и смерти.

Во-вторых, оба вируса передаются при контакте, воздушно-капельным путем и через fomites. В силу этого, важные медико-санитарные меры, которые все могут предпринимать для предотвращения инфекции, являются одинаковыми, например: гигиена рук и соблюдение дыхательного этикета (кашлять в локоть или в бумажный платок с последующим незамедлительным выбрасыванием).

#### **Вопрос: Чем отличаются COVID-19 и вирусы гриппа?**

Важным различием между этими двумя вирусами является скорость передачи.

Грипп имеет более короткий средний инкубационный период (время от заражения до появления симптомов) и более короткий серийный интервал (время между последовательными случаями), чем у вируса COVID-19. Серийный интервал для вируса COVID-19 оценивается в 5-6 дней, в то время как для вируса гриппа последовательный интервал составляет 3 дня. Это означает, что грипп может распространяться быстрее, чем COVID-19.

Кроме того, передача в первые 3-5 дней болезни или, потенциально, предсимптомная передача – передача вируса до появления симптомов – является основной причиной передачи гриппа. В противоположность этому, хотя мы знаем, что есть люди, которые могут распространять вирус COVID-19 за 24-48 часов до появления симптомов, в настоящее время это, по-видимому, не является основной причиной передачи инфекции.

Предполагается, что репродуктивное число – число вторичных случаев заражения, вызванных одним инфицированным человеком – для вируса COVID-19 составляет от 2 до 2,5, что выше, чем для гриппа. Тем не менее, оценки, сделанные для COVID-19 и гриппа, очень контекстуальны и зависят от временного периода, что затрудняет прямые сравнения.

Дети являются важным фактором передачи вируса гриппа в обществе. Для вируса COVID-19 первоначальные данные показывают, что болезнь затрагивает детей меньше, чем взрослых, и частота случаев заболевания с клиническими проявлениями в возрастной группе 0-19 лет является низкой. Дополнительные предварительные данные, полученные относительно домохозяйств в Китае, показывают, что дети заражаются от взрослых, а не наоборот.

В то время как эти два вируса имеют похожий спектр симптомов, доля тяжелых случаев, по-видимому, отличается. Для COVID-19 данные на сегодняшний день позволяют предположить, что 80% случаев заражения являются легкими или бессимптомными, 15% – тяжелыми, требующими оксигенации, и 5% критическими, требующими вентиляции. Доли тяжелых и критических случаев выше, чем те, которые наблюдаются для гриппа.

Больше всего риску тяжелой гриппозной инфекции подвержены дети, беременные женщины, пожилые люди, лица с хроническими заболеваниями и иммунодефицитом. Что касается COVID-19, то в настоящее время мы знаем, что пожилой возраст и сопутствующие заболевания увеличивают риск тяжелой инфекции.

Смертность от COVID-19, по-видимому, выше, чем от гриппа, особенно от сезонного. Хотя для полного понимания истинных масштабов смертности от COVID-19 потребуется некоторое время, имеющиеся у нас данные показывают, что общий коэффициент смертности (число зарегистрированных смертей, деленное на число зарегистрированных случаев заболевания) составляет 3-4%, показатель инфекционной смертности (число зарегистрированных смертей, деленное на количество случаев заражения) будет ниже. Для сезонного гриппа смертность обычно значительно ниже 0,1%. Тем не менее, смертность в значительной степени определяется доступом к медицинской помощи и ее качеством.

#### **Вопрос: Какие медицинские средства доступны для COVID-19 и вирусов гриппа?**

Несмотря на то, что в настоящее время в Китае проводятся клинические испытания ряда лекарственных средств, а в мире разрабатывается более 20 вакцин для COVID-19, в настоящее время нет лицензированных вакцин или терапевтических средств. В то же время, противовирусные препараты и вакцины против гриппа существуют. Хотя вакцина против гриппа не эффективна против вируса COVID-19, настоятельно рекомендуется делать прививки каждый год, чтобы предотвратить заражение гриппом.



Информация подготовлена на основе материалов ВОЗ, размещенных по адресу: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200307-sitrep-47-covid-19.pdf?sfvrsn=27c364a4\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200307-sitrep-47-covid-19.pdf?sfvrsn=27c364a4_2)

СИМПТОМЫ	ОСНОВНЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ СИМПТОМАМИ КОРОНАВИРУСА COVID-19, ПРОСТУДНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ГРИППА		
	КОРОНАВИРУС	ПРОСТУДНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ	ГРИПП
Повышенная температура	<b>часто</b>	редко	<b>часто</b>
Усталость	иногда	иногда	<b>часто</b>
Кашель	<b>часто (сухой)</b>	незначительный	<b>часто (сухой)</b>
Чихание	нет	<b>часто</b>	нет
Боль в суставах	иногда	<b>часто</b>	<b>часто</b>
Насморк	редко	<b>часто</b>	иногда
Боль в горле	иногда	<b>часто</b>	иногда
Диарея	редко	нет	иногда (у детей)
Головная боль	иногда	редко	<b>часто</b>
Одышка	иногда	нет	нет

РОСПОТРЕБНАДЗОР  
ЕДИНЫЙ КОНСУЛЬТАЦИОННЫЙ ЦЕНТР  
РОСПОТРЕБНАДЗОРА 8-800-555-49-43

## Лабораторная диагностика COVID-19

В начале пандемии было выяснено, что более 40% инфицированных людей вообще не испытывали никаких симптомов к моменту тестирования, оказавшемуся положительным (Gudbjartsson 2020). Было показано, что выделение вируса может начинаться за 2 дня до появления клинических признаков заболевания, и это – одна из причин носить маски всем во время эпидемии.

Строгим доказательством заболевания коронавирусной инфекцией служит либо выделение вируса от больного, либо обнаружение в организме маркеров инфекции: методом ОТПЦР – выявление фрагмента РНК коронавируса, методом ИФА или другим серологическим методом – антигена коронавируса или специфических антител. Серологическое подтверждение пребывания вируса в организме – появление специфических иммуноглобулинов (антител) класса М или нарастание (не менее чем 4-кратное) иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови. Кроме этого, для выявления специфических антител может быть использована реакция нейтрализации.

В настоящее время ПЦР является одним из наиболее распространенных методов для выявления коронавирусной инфекции в мире. Основным материалом, используемым для диагностики коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТПЦР, являются образцы, отобранные из респираторного тракта: мазок из носоглотки и ротоглотки и мокрота (при наличии) и/или эндотрахеальный аспират или бронхоальвеолярный лаваж; для посмертной диагностики используют аутопаты легких, трахеи и селезенки. Высокая вирусная нагрузка в сыворотке крови может быть прогностическим признаком развития тяжелой формы заболевания. Следует отметить, что ACE2 (рецептор для SARS-CoV-2) помимо дыхательных путей также широко

присутствует у людей в эпителии тонкой кишки и повсеместно присутствует в эндотелиальных клетках. Сделано предположение, что высокий уровень репликации коронавируса в альвеолах легких приводит к разрушению альвеолярного сосуда и последующему попаданию вируса в кровоток, через который вирус распространяется по всему телу. (Weilie Chen, Yun Lan, Xiaozhen Yuan, Xilong Deng, Yueping Li, Xiaoli Cai, Liya Li, Ruiying He, Yizhou Tan, Xizi Deng, Ming Gao, Guofang Tang, Lingzhai Zhao, Jinlin Wang, Qinghong Fan, Chunyan Wen, Yuwei Tong, Yangbo Tang, Fengyu Hu, Feng Li & Xiaoping Tang (2020) Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity, *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 469-473, DOI: 10.1080/22221751.2020.1732837].

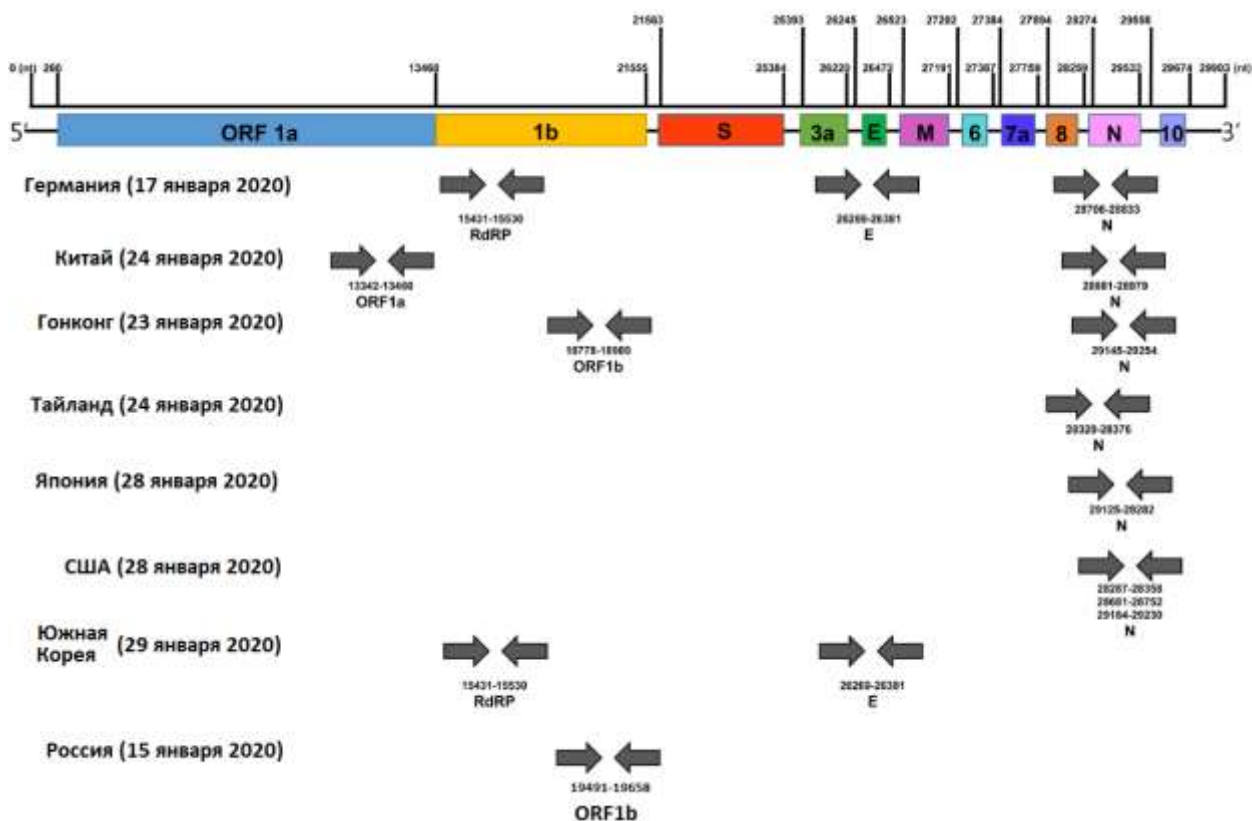


Рис. 29. Диагностические праймеры для генома SARS-CoV-2. Цифрами показаны положения праймеров в соответствии с положением в геноме SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1, GenBank: MN908947.3. (На основе источника: Dae-Gyun Ahn, Hye-Jin Shin, Mi-Hwa Kim, Sunhee Lee, Hae-Soo Kim, Jinjong Myoung, Bum-Tae Kim, and Seong-Jun Kim. Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) // *J. Microbiol. Biotechnol.* (2020), 30(3), 313–324, <https://doi.org/10.4014/jmb.2003.03011>)

Для диагностики COVID-19 могут быть использованы различные платформы.

Таблица 7.

Технологические платформы для диагностики COVID-19 с соответствующими типами образцов и принципами работы SARS-CoV-2 (Manish Kumar, Kaling Taki, Rohit Gahlot, Ayushi Sharma, Kiran Dhangar. A chronicle of SARS-CoV-2: Part-I - Epidemiology, diagnosis, prognosis, transmission and treatment // *Science of the Total Environment*, 734 (2020) 139278 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139278>)

Платформа	Выявление маркера	Образец	Принцип работы	Литература
CRISPR (Clustered)	Нуклеиновая	Сыворотка	Разработаны различные подходы использования CRISPR в диагностике патогенов. Например, диагностика нуклеиновых	Wang et al. (2020a), Wang et al. (2020b),

Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)	кислота	крови	кислот патогенов с транс-расщеплением активных CRISPR-Cas. В отсутствие нуклеиновой кислоты-мишени нуклеаза Cas неактивна. После связывания своей кРНК с родственной мишенью (РНК для Cas13a, дцДНК для Cas12a, оцДНК для Cas14a) нуклеаза активируется, что приводит к расщеплению мишени и каталитическому расщеплению близлежащих нуклеиновых кислот (оцРНК для Cas13a, оцДНК для Cas12a и Cas14a. ). Эта «побочная» нуклеазная активность превращается в усиленный сигнал за счет обеспечения репортерных зондов с флуорофором.	Wang et al. (2020c), Wang et al. (2020d).
RAT (Rapid Antigen Test)	Белок	Сыворотка Крови	Меченые золотом антитела инициируют образование колориметрического сигнала на бумаге в присутствии целевого агента.	Bosch et al. (2017).
RPA (Recombinase Polymerase Amplification)	Нуклеиновая кислота	Соскобы (нос, ректальный)	В РПА используют большой фрагмент Vsu-полимеразы, рекомбиназу и SSB-белки. Часть молекул рекомбиназы связывается с одним праймером, часть - с другим, образуя комплексы. После внесения в реакцию смесь такие комплексы сканируют ДНК в поисках комплементарных праймеру участков и, найдя их, инициируют процесс расплетения двухцепочечной молекулы и присоединения праймера. Расплетенную ДНК стабилизируют SSB-белки, после этого полимеразы начинают синтез. Размер амплифицируемого фрагмента ограничивается 500 пар нуклеотидов, а минимальная длина праймера должна быть 30 нуклеотидов для повышения его специфичности. Реакция протекает очень быстро, и детектируемый уровень ДНК обычно достигается уже в течение 3-10 минут	Amer et al. (2013). <a href="http://www.maxmedikal.com/files/catalogs/RPA-%D0%B1%D1%80%D0%BE%D1%88%D1%8E%D1%80%D0%B0-%D1%80%D1%83%D1%81-12%D0%D1%81%D1%82%D1%80.pdf">http://www.maxmedikal.com/files/catalogs/RPA-%D0%B1%D1%80%D0%BE%D1%88%D1%8E%D1%80%D0%B0-%D1%80%D1%83%D1%81-12%D0%D1%81%D1%82%D1%80.pdf</a>
RCA (Rolling Circle Amplification)	Нуклеиновая кислота	Сыворотка Крови	RCA представляет собой изотермический ферментативный процесс, который использует ДНК- или РНК-полимеразы (например, ДНК-полимеразу $\Psi$ 29) для получения одноцепочечных молекул ДНК (ssDNA) или РНК, которые представляют собой соединение в серии комплементарных единиц матрицы. ДНК-полимераза используется для удлинения кольцевого праймера и многократной репликации нуклеиновой последовательности.	Martel et al. (2013). Gu L, Yan W, Liu L, Wang S, Zhang X, Lyu M. Research Progress on Rolling Circle Amplification (RCA)-Based Biomedical Sensing. Pharmaceuticals (Basel). 2018; 11(2):35. doi:10.3390/ph11020035
SIMOA (Single-Molecule Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	Белок	Сыворотка Крови	Технология SIMOA основана на выделении отдельных иммунокомплексов на парамагнитных шариках с использованием стандартных реагентов ELISA. Основное различие между SIMOA и обычными иммуноанализами заключается в способности улавливать отдельные молекулы в лунках размером с фемтолитр, что позволяет проводить считывание каждого отдельного шарика и определять, связан ли он с целевым анализом или нет. Традиционные измерения ELISA ограничены уровнями обнаружения пг / мл. RayBio Ultrasensitive Simoa Testing Services может достигать чувствительности на уровне фемтограмма (фг / мл).	Rissin et al. (2010). <a href="https://www.raybiotech.com/simoa-single-molecule-protein-detection/">https://www.raybiotech.com/simoa-single-molecule-protein-detection/</a> , <a href="http://www.healthtech.com/uploadedFiles/Conferences/White_Papers/MXA/Scientific-Principles-of-Simo-Technology.pdf">http://www.healthtech.com/uploadedFiles/Conferences/White_Papers/MXA/Scientific-Principles-of-Simo-Technology.pdf</a>
NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Amplification)	Нуклеиновая кислота	Соскоб (нос)	Транскрипционная амплификация для РНК-мишеней. Амплификация последовательности нуклеиновой кислоты (NASBA) на основе мРНК. Активность обратной транскриптазы, рибонуклеазы H (РНКазы H) и РНК-полимеразы T7 объединяются для получения новых РНК-мишеней через вновь синтезированные двухцепочечные интермедиаты ДНК. NASBA может вызывать $10^7$ -кратную амплификацию нуклеиновой кислоты-мишени в течение 60 минут. Измерение мРНК может подтвердить наличие и жизнеспособность целевого организма. Поскольку NASBA исключительно амплифицирует РНК, присутствие ДНК в образцах не даст ложных срабатываний. Этот метод может быть выполнен изотермически, что уменьшает потребность в специализированном оборудовании.	Wat et al. (2008) Danny L. Wiedbrauk, Ann M. Drevon, in Molecular Methods for Virus Detection, 1995

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)	Нуклеиновая кислота	Соскоб (глотка)	Метод LAMP заключается в использовании для амплификации ДНК четырех/шести олигонуклеотидных праймеров и большого фрагмента Bst ДНК-полимеразы, различных модификаций, обладающего сильной хеликазной активностью. Четыре праймера должны быть специфичны к участкам целевого фрагмента. Реакция протекает в изотермических условиях, так как денатурация цепей происходит за счет их смещения хеликазой.	Imai et al. (2007).  <a href="https://www.skygen.com/podderzhka/obzory/28_izotermicheskaya_amplifikatsiya_resheniya_ot_new_england_biolabs/#1">https://www.skygen.com/podderzhka/obzory/28_izotermicheskaya_amplifikatsiya_resheniya_ot_new_england_biolabs/#1</a>
RT-LAMP (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification)	Нуклеиновая кислота	Смыв (носоглотка)	Совмещение реакции обратной транскрипции и LAMP для РНК-мишеней. В LAMP в качестве матрицы можно использовать и РНК, если добавить в реакционную смесь ревертазу или Bst 3.0 ДНК-полимеразу, обладающую ревертазной активностью.	Shirato et al. (2007).  <a href="https://www.skygen.com/podderzhka/obzory/28_izotermicheskaya_amplifikatsiya_resheniya_ot_new_england_biolabs/#1">https://www.skygen.com/podderzhka/obzory/28_izotermicheskaya_amplifikatsiya_resheniya_ot_new_england_biolabs/#1</a>
ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	Белок	Сыворотка крови	Принцип метода заключается в реакции специфического взаимодействия антигена с антителом с образованием иммунного комплекса и последующей детекции полученного комплекса с помощью спектрофотометрии, хемилюминесценции и других методик. Детекция может быть как прямой (когда исследуемое вещество само обладает ферментативной активностью, либо оно помечено ферментной меткой), так и косвенной или непрямой (когда исследуемое вещество, связавшееся с иммобилизованными на твердой фазе антителами, инкубируется с антителами, меченными ферментом).	Rowe et al. (1999).  ОФС.1.7.2.0033.15 Метод иммуноферментного анализа

Верхний предел обнаружения РНК SARS-CoV-2 (LoB) для разработанного метода qPCR, в соответствии с рекомендациями CLSI EP17-A [10], составил 2800 копий/мкл при Ct 14. Хорошую линейность ( $R_2 \geq 0,9936$ ) наблюдали в диапазоне от приблизительно  $10^7$  до 10 копий/в реакции. LoB для данного метода, выраженное в геномных эквивалентах (ГЭ), составило  $10^3$  ГЭ/мл. (Ct 37). Специфичность – 100%. Благодаря своей высокой чувствительности и специфичности наборы позволяют обнаруживать генетический материал коронавируса уже на ранних стадиях, что крайне важно для своевременного выявления заболевания и принятия экстренных противоэпидемических мероприятий.

Для обнаружения РНК SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19 широко используются различные варианты ПЦР тест-систем в режиме реального времени (qPCR) (Zhai P, Ding Y, Wu X, Long J, Zhong Y, Li Y. The epidemiology, diagnosis and treatment of COVID-19. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 May;55(5):105955. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105955. Epub 2020 Mar 28. PMID: 32234468). Основные проблемы эффективного обнаружения маркеров коронавирусной инфекции связаны с наличием большого количества образцов с низкой вирусной нагрузкой, от 200 до 500 копий/мл. Как правило, это связывается с наличием проб от пациентов в инкубационном периоде и инapparantными формами COVID-19. Попытки оценить реальное количество таких людей ранее предпринимались в Сингапуре, Тяньцзине и Германии и оно примерно составляло от 44% до 62% исследованных проб (Yang Y, Yang M, Shen C, Wang F, Yuan J, Li J, et al. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections. <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.20021493>. 2020). Использование dPCR для тестирования пациентов с COVID-19 показало, что цифровой ПЦР более чувствителен и может применяться для анализа образцов с низкой вирусной нагрузкой, особенно для пациентов без клинических симптомов (He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>; Rothe C, Schunk M, Sothmann P, et al. Transmission of 2019-nCoV Infection 245 from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMc2001468).

Цифровая ПЦР (dPCR) - это ПЦР технология, которая разделяет реакционную смесь на большое количество меньших реакций, в каждой из которых присутствует только одна молекула нуклеиновой кислоты и таким образом можно получить данные, по конечной точке, на основе интенсивности флуоресценции для каждой индивидуальной тестируемой молекулы (Quan P-L., Sauzade

M., Brouzes E. dPCR: A Technology Review *Sensors* (Basel). 2018 Apr; 18(4): 1271. Published online 2018 Apr 20. doi: 10.3390/s18041271; Hindson BJ, Ness KD, Masquelier DA, Belgrader P, Heredia NJ, Makarewicz AJ, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Anal Chem* 2011;83:8604-10; Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, Gallichotte EN, Ruf IK, Hindson BJ, et al. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature methods* 2013;10:1003-5). Количественная оценка выполняется путем применения статистики Пуассона при расчете доли отрицательных микрочаек и положительных, которые изначально содержали более одной молекулы-мишени. dPCR обладает большей точностью чем qPCR, и его гораздо проще использовать для подсчета числа копий РНК и количественной оценки из-за бинарной природы, в которой реакционные микрочаечки считаются либо положительными или отрицательными (Vogelstein B, Kinzler KW. Digital pcr. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:9236-41). Кроме того, dPCR более устойчив к ингибированию в ПЦР по сравнению с qPCR (Dingle TC, Sedlak RH, Cook L, Jerome KR. Tolerance of droplet-digital PCR VS real-time quantitative PCR to inhibitory substances. *Clinical chemistry* 2013;59:1668-70; Набор олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно меченых зондов для идентификации РНК коронавирусов видов 229E, NL63, OC43, HKU1 методом гибридационно-флуоресцентной обратнотранскриптазной полимеразной цепной реакции. Патент №2473702 от 16.11.11; Li YC, Bai WZ, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2020 Jun;92(6):552-555. doi: 10.1002/jmv.25728. Epub 2020 Mar 11).

У пациентов с COVID-19, в период проявления клинических симптомов заболевания, наблюдалась высокая концентрация РНК SARS-CoV-2 которая составляла более 100 копий/мкл. По мере развития заболевания и в период реконвалесценции вирусная нагрузка резко уменьшается, до >1 копии/мкл. В пробах от COVID-19 пациентов с бессимптомным течением заболевания также была обнаружена низкая концентрация РНК SARS-CoV-2, которая составляла около 1 копии/мкл.

Оценка вирусной нагрузки у пациентов может иметь большое значение для выбора стратегии лечения и проведения карантинных мероприятий. Принято считать, что qPCR, как стандартный метод обнаружения РНК SARS-CoV-2, играет важную роль в раннем выявлении COVID-19 у пациентов (He, X., Lau, E.H.Y., Wu, P. et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>). Недостаточная чувствительность метода для оценки вирусной нагрузки может быть связана с рядом факторов: особенностями сбора образцов, их транспортировкой и хранением, а также техническими погрешностями при постановке ПЦР (Lianhua Dong, Junbo Zhou, Chunyan Niu, Quanyi Wang, Yang Pan, Xia Wang, et al. Highly accurate and sensitive diagnostic detection of SARS-CoV-2 by digital PCR. <https://doi.org/10.1101/2020.03.14.20036129>). С целью уточнения полученных результатов необходимо проведение повторных тестирований. Наличие высокочувствительных и точных подтверждающих тестов принципиально важно для своевременной и эффективной диагностики COVID-19.

В настоящее время, кроме qPCR, существуют и другие методы, такие как секвенирование следующего поколения (NGS) и обнаружение иммунологических маркеров. Выявление антивирусных IgM и IgG может также быть использовано в качестве подтверждающего метода диагностики COVID-19, вызванного SARS-CoV-2. Применение нескольких методов диагностики позволяет уменьшить количество ложноотрицательных результатов.

Однако диагностика, основанная на выявлении вирусных нуклеиновых кислот, до сих пор считается золотым стандартом. Метод цифровой ПЦР может быть важным подтверждающим тестом, который может значительно улучшить показатель выявляемости пациентов с COVID-19. Полученные результаты по использованию dPCR для детекции РНК SARS-CoV-2 показали, что этот метод особенно подходит для выявления РНК в случае ее низкой концентрации у контактных, а также для мониторинга изменения вирусной нагрузки у выздоравливающих пациентов (Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020 May 5;172(9):577-582. doi: 10.7326/M20-0504. Epub 2020 Mar 10). Дополнительное преимущество количественного определения РНК SARS-CoV-2 заключается в том, что он позволяет количественно сравнивать результаты, полученные в разные сроки заболевания и в различных лабораториях. Количественная оценка мишеней с помощью dPCR обеспечивает высокое соответствие между различными постановками ПЦР различными операторами (Ai T, Yang Z,

Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of chest Ct and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A report of 1014 cases. *Radiology* 2020;200642). Таким образом, dPCR является методом выбора для оптимального определения вирусной нагрузки у бессимптомных и выздоравливающих пациентов.

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора первым в Российской Федерации разработал и зарегистрировал **Набор реагентов «Вектор-ПЦР<sub>РВ</sub>-2019-nCoV-RG»** для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом, основанным на амплификации кДНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР) и гибридационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени и **Набор реагентов «Вектор-OneStepПЦР-CoV-RG»** для выявления РНК коронавирусов SARS и нового коронавируса 2019-nCoV (SARS-CoV-2) методом, основанным на обратной транскрипции (ОТ) и последующей амплификации кДНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР) и гибридационно-флуоресцентной детекции продуктов амплификации в режиме реального времени.

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора первым в Российской Федерации разработал, зарегистрировал и первым внедрил в производство набор реагентов «SARS-CoV-2-ИФА-Вектор» для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке (плазме) крови человека (регистрационное удостоверение № РЗН 2020/10017 от 10.04.2020). Метод основан на иммуноферментном анализе, широко распространенном и в Российской Федерации, и в мире. Метод обладает высокой чувствительностью (100%) и специфичностью (100%) благодаря включению в набор в качестве антигена цельновирионного инактивированного коронавируса SARS-CoV-2. Набор предназначен для установления факта перенесенной ранее инфекции и для исследований постинфекционного и, в будущем, поствакцинального иммунитета, а также может быть использован для отбора наиболее эффективной вакцины по такому важному показателю, как гуморальный иммунитет.

При атипичной пневмонии абсолютная лимфопения (количество лимфоцитов  $<1,0 \cdot 10^9 / л$ ), в том числе снижение CD4 и CD8, наблюдалась в 98% случаев инфицирования коронавирусом SARS. В ряде случаев регистрируется лейкопения и тромбоцитопения, повышение уровня ЛДГ (до 1500 Е/л), умеренное повышение уровня АЛТ (до 200 Е/л) и АСТ (до 200 Е/л) и повышение уровня КФК (Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, Yee WK, et al. A Cluster of Cases of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* ; 348:1977-1985, DOI: 10.1056/NEJMoa030666). Дисфункция печени с аномальным содержанием аланиновой трансаминазы были отмечены у 29,6% пациентов при госпитализации, но увеличилась до 75,9% из тех, кто получает системный кортикостероид и рибавирин при лечении инфекции SARS.

Позднее появление Ig M вероятно может быть прогностическим признаком тяжелого течения коронавирусной инфекции. Были получены данные, согласно которым у половины пациентов с поздним образованием антител класса M впоследствии наблюдалось тяжелое течение COVID-19: они поступали в отделение интенсивной терапии и находились там более трех суток.

Рентгенограмма грудной клетки первоначально не выявляет изменений у четверти пациентов. Компьютерная томография высокого разрешения (КТВР) грудной клетки может обнаружить небольшие ранние паренхиматозные поражения. Основные поражения, выявляемые КТВР включали в себя внутриллобулярное интерстициальное утолщение, уплотнение и помутнение в виде матового стекла, которые вовлекают в процесс преимущественно периферические поля легких, их нижние доли (рис. 30).

У 12% пациентов развилось спонтанно-средостение, а у 20% у пациентов развились признаки острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) в течение 3 недель. Баротравмы происходили в 26% случаев при критически тяжелых случаях инфекции SARS, возможно, из-за



Рис. 30. Грудная томография пациента с «матовым стеклом» в переднелатеральной области сегмента левой нижней доли легкого (David S.C. Alimuddin Zumla, Severe Acute Respiratory Syndrome Historical, Epidemiologic, and Clinical Features // Infect Dis Clin N Am 33 (2019) 869–889)

**Серологические исследования.** Первые проведенные крупномасштабные серологические исследования свидетельствуют о том, что антитела к коронавирусу могут исчезать из организма человека, который переболел COVID-19. Анализ на наличие антител к SARS-CoV-2 у 61 075 испанцев показал, что антитела есть лишь у 5% (4,6-5,2% проверенных в зависимости от вида теста). Исследователи пришли к выводу, что риск заболеть коронавирусом не зависит от пола, но на него может влиять география: в районе Мадрида и Барселоны, крупных мегаполисов, доля людей с антителами превысила 10% и 7%, соответственно, тогда как среди жителей прибрежных населенных пунктов она оказалась меньше – 3%. У детей младшей 10 лет антитела выявляли реже, а у медицинских работников – в два раза чаще, чем среди популяции в целом. Почти треть людей с найденными антителами заявили, что они не заметили у себя симптомов болезни. При этом у 14% участников исследования, которые за 2 месяца до этого сдали положительные пробы, и они оказались положительными на антитела, при повторном тестировании антител не выявили. В большинстве случаев антитела исчезали у людей, у которых при заболевании COVID-19 симптомы были слабо выраженными или отсутствовали вовсе (Marina Pollán, Beatriz Pérez-Gómez, Roberto Pastor-Barriuso, Jesús Oteo, Miguel A Hernán, Mayte Pérez-Olmeda, Jose L Sanmartín, Aurora Fernández-García, Israel Cruz, Nerea Fernández de Larrea, Marta Molina, Francisco Rodríguez-Cabrera, Mariano Martín, Paloma Merino-Amador, Jose León Paniagua, Juan F Muñoz-Montalvo, Faustino Blanco, Raquel Yotti, on behalf of the ENE-COVID Study Group. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study// [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31483-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5)).

На формирование коллективного иммунитета сделала ставку в своей стратегии борьбы с коронавирусом Швеция — она не стала вводить серьезных карантинных мер и ограничений. В результате в этой стране один из самых высоких в Европе уровней смертности от коронавируса: в стране зарегистрировали 73 344 заболевших и 5447 смертей. Для сравнения: в соседней Дании —

13 089 заболевших при всего лишь 609 смертях. По данным компании Werlabs, в среднем по Швеции антитела есть только у 10,8% проверенных.

## Вакцины

**В настоящее время самым эффективным средством борьбы с инфекционными заболеваниями является вакцинация**

Несмотря на высокую долю коронавирусов человека OC43, 229E, HKU1 и NL63 в общей заболеваемости ОРВИ, разработка вакцин против заболеваний, вызываемых этими коронавирусами, по актуальности не входит в число приоритетных задач. Это связано с низким процентом случаев, когда заболевший вынужден обращаться за медицинской помощью и небольшое количество тяжелых случаев. Активность в разработке вакцины против ТОРС-коронавируса (SARS) была практически свернута из-за прекращения циркуляции этого вируса в человеческой популяции. Вакцины против MERS-CoV находятся в разработке, но из-за невысокого интереса к этому продукту с коммерческой точки зрения эти вакцины до сих пор не присутствуют на рынке. Тем не менее, данные о структурно-функциональных свойствах белков коронавирусов, иммунопатогенезе заболевания, механизмах и факторах, влияющих на формирование иммунного ответа, стали остро востребованы после начала пандемии COVID-19.

Создание эффективной вакцины требует оценки потенциального вклада каждого антигена в формирование иммунного ответа.

Поверхностный белок S коронавирусов является важной мишенью для действия вакцин, потому что через него реализуется механизм рецепторного связывания вируса с клеткой хозяина. Белок S коронавирусов человека распознает различные рецепторы клеток человека, в первую очередь - ACE2 (коронавирусы SARS и SARS-CoV-2), APN (коронавирусы 229E), DPP4 (коронавирус MERS), 9-O-acetylated sialic acid (коронавирусы OC-43, HKU1). В S1-субъединице белка S содержится рецептор-связывающий домен (RBD), субъединица S2 необходима для слияния мембран клеток-хозяина и вируса, гомология между RBD белков S коронавирусов SARS и SARS-CoV-2 составляет примерно 75% (Sun C, Chen L, Yang J, Luo C, Zhang Y, Li J, et al. 2020. SARS-CoV-2 and SARS-CoV Spike-RBD structure and receptor binding comparison and potential implications on neutralizing antibody and vaccine development. *BioRxiv*. doi: 10.1101/2020.02.16.951723).

В работе (Syed Faraz Ahmed, Ahmed A. Quadeer, Matthew R. McKay . Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies // *Viruses* 2020, 12, 254; doi:10.3390/v12030254) были определены Т-клеточные эпитопы SARS-CoV-2. Т-клеточные эпитопы, были определены экспериментально с использованием 2 различных типов анализа: (i) положительные анализы, которые тестировались на Т-клеточный ответ против эпитопов и (ii) положительные анализы, которые тестировались на связывание с эпитопом-МНС. Всего было выявлено 115 Т-клеточных эпитопов, 27 из которых не содержали мутаций в доступных последовательностях SARS-CoV-2 (Syed Faraz Ahmed, Ahmed A. Quadeer, Matthew R. McKay . Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies // *Viruses* 2020, 12, 254; doi:10.3390/v12030254). Интересно, что все они присутствовали в N (16) или S (11) белках вируса. Анализы связывания МНС были выполнены для



19 из этих 27 эпитопов. Определено, что они связаны только с пятью различными аллелями MHC (с разрешением 4 цифры): HLA-A\*02: 01; HLA-B\*40: 01; HLA-DRA\*01: 01; HLA-DRB1\*07: 01 и HLA-DRB1\*04: 01. Сумарный охват для этих эпитопов оценивается для населения Земли примерно в 59,76%, а для Китая – 32,36% (Табл. 8).

Таблица 8.

Т-клеточные эпитопы белков N и S вируса SARS-CoV, полученные с использованием положительных анализов Т-клеток (всего 27 эпитопов).

Protein	IEDB ID	Epitope	MHC Allele <sup>1</sup>	MHC Allele Class <sup>1</sup>
N	125100	ILLNKHID	HLA-A*02:01	I
N	1295	AFFGMSRIGMEVTPSGTW	NA	NA
N	190494	MEVTPSGTWL	HLA-B*40:01	I
N	21347	GMSRIGMEV	HLA-A*02:01	I
N	27182	ILLNKHIDA	HLA-A*02:01	I
N	2802	ALNTPKDHI	HLA-A*02:01	I
N	28371	IRQGTDYKHWPQIAQFA	NA	NA
N	31166	KHWPQIAQFAPSASAFF	NA	NA
N	34851	LALLLLDRL	HLA-A*02:01	I
N	37473	LLLDRLNQL	HLA-A*02:01	I
N	37611	LLNKHIDAYKTFPPTPEPK	NA	NA
N	38881	LQLPQGTTL	HLA-A*02:01	I

Protein	IEDB ID	Epitope	MHC Allele <sup>1</sup>	MHC Allele Class <sup>1</sup>
N	3957	AQFAPSASAFFGMSR	NA	II
N	3958	AQFAPSASAFFGMSRIGM	NA	NA
N	55683	RRPQGLPNNTASWFT	NA	I
N	74517	YKTFPPTPEPKDKKKK	NA	NA
S	100048	GAALQIPFAMQMAYRF	HLA-DRA*01:01, HLA-DRB1*07:01	II
S	100300	MAYRFNGIGVTQNVLY	HLA-DRB1*04:01	II
S	100428	QLIRAAEIRASANLAATK	HLA-DRB1*04:01	II
S	16156	FIAGLIAIV	HLA-A*02:01	I
S	2801	ALNTLVKQL	HLA-A*02:01	I
S	36724	LITGRLQSL	HLA-A2	I
S	44814	NLNESLIDL	HLA-A*02:01	I
S	50311	QALNTLVKQLSSNFGAI	HLA-DRB1*04:01	II
S	54680	RLNEVAKNL	HLA-A*02:01	I
S	69657	VLNDILSRL	HLA-A*02:01	I
S	71663	VVFLHVTYV	HLA-A*02:01	I

Для дальнейшего расширения поиска и выявления потенциально эффективных Т-клеток-мишеней, охватывающих более высокие процент населения, были рассмотрены еще 229 эпитоп-

последовательностей, 102 из них располагаются в белках S (66) или N (36). Отображение 66 эпитопов на кристаллическую структуру белка S коронавируса SARS показало, что 3 из них (GYQPYRVVVL, QPYRVVLSF и PYRVVLSF) были полностью локализованы в мотиве рецептор-связывающего домена вируса SARS (<https://www.uniprot.org/uniprot/P59594>), важного для проникновения вируса в клетку.

Аналогично были определены В-клеточные эпитопы белков вируса SARS.

Были получены данные о структуре 298 линейных В-клеточных эпитопов и обнаружено, что 49 последовательностей эпитопов идентично совпадают с белковыми последовательностями вируса SARS-CoV-2. Интересно, 45 из них были получены из белок S (23) или N (22) (табл. 9), в то время как остальные 4 находились в белке М.

Таблица 9.

Линейные В-клеточные эпитопы в S- и N-белках коронавирусов SARS и SARS-CoV-2 (22эпитопа в белке N, и 23 эпитопа в белке S, 20 из которых расположены в субъединице S2).

Protein	Subunit	IEDB ID	Epitope	Protein	IEDB ID	Epitope
S	S2	10778	DVVNQNAQALNTLVKQL	N	15814	FFGMSRIGMEVTPSGTW
S	S2	11038	EAEVQIDRLITGRLQSL	N	21065	GLPNNTASWFTALTQHGK
S	S2	12426	EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEY	N	22855	GTTLPK
S	S2	14626	EVAKNLNESLIDLQELG	N	28371	IRQGTDYKHWPOIAQFA
S	S2	18515	GAALQIPFAMQMAYRFN	N	31116	KHIDAYKTFPPTPKKDKKKK
S	S1	18594	GAGICASY	N	31166	KHWPQIAQFAPSASAFF
S	S2	2092	AISSVLNDILSRDLKVE	N	75235	YNVTQAFGRRGPEQTQGNF
S	S2	22321	GSFCTQLN	N	33669	KTFPPTPKKDKKKK
S	S2	27357	ILSRDLKVEAEVQIDRL	N	37640	LLPAAD
S	S1	30987	KGIYQTSN	N	38249	LNKHIDAYKTFPPTPK
S	S2	3176	AMQMAYRF	N	38648	LPQGTTLPKG
S	S2	32508	KNHTSPDVDLGDISGIN	N	38657	LPQRQKKQ
S	S2	41177	MAYRFNGIGVTQNVLYE	N	48067	PKGFYAEGSRGGSQASSR
S	S2	462	AATKMSECVLQSKRVD	N	50741	QFAPSASAFFGMSRIGM
S	S2	47479	PFAMQMAYRFNGIGVTQ	N	50965	QGTDYKHW
S	S2	50311	QALNTLVKQLSSNFGAI	N	51483	QLPQGTTLPKGIFYAE
S	S2	51379	QLIRAAEIRASANLAAT	N	51484	QLPQGTTLPKGIFYAEGSR
S	S1	52020	QQFGRD	N	51485	QLPQGTTLPKGIFYAEGSRGGSQ
S	S2	53202	RASANLAATKMSECVLG	N	63729	TFPPTPK
S	S2	54599	RLITGRLQSLQTYVTQQ	N	55683	RRPQGLPNNTASWFT
S	S2	558417	EIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEY	N	60379	SQASSRSS
S	S2	59425	SLQTYVTQQLIRAAEIR	N	60669	SRGGSQASSRSSRSR
S	S2	9094	DLGDISGINASVNIQK			

**Коронавирус, вызывающий заболевание Ближне-восточный респираторный синдром (MERS),** относится к роду *Betacoronavirus* семейства *Coronaviridae* и генетически близок к коронавирусам летучих мышей HKU4 и HKU5. Первые случаи заболевания были зарегистрированы в июне 2012 года. В университете Питтсбурга (США) собраны 2 конструкции на основе аденовируса, в одну из которых встроен полный ген, кодирующий поверхностный S-белок БВРС-КоВ, а во вторую – экстрацеллюлярный домен этого белка. Обе конструкции вызывали у иммунизированных мышей образование антител, в том числе антител, нейтрализующих вирус при проверке на клетках (Eun

Kima, Kaori Okadaa, Tom Kennistona, et al. Immunogenicity of an adenoviral-based Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine in BALB/c mice // Vaccine, Volume 32, Issue 45, 14 October 2014, Pages 5975–5982).

В институте вирусологии (Марбург, Германия) препарат против Ближне-восточного респираторного синдрома был разработан на основе штамма Анкара вируса осповакцины, в который был встроен полный ген, кодирующий поверхностный S-белок MERS. Препарат вызывал у иммунизированных мышей образование вирус-нейтрализующих антител и активацию клеточного звена иммунитета (формирование CD8+ Т-клеток). Препарат обладал протективностью при использовании специально подготовленной модели животных (мыши с трансдуцированным рецептором человеческой дипептидил-пептидазы 4) (Asisa Volz, Alexandra Kupke, Fei Song, et al. Protective efficacy of recombinant Modified Vaccinia virus Ankara (MVA) delivering Middle East Respiratory Syndrome coronavirus spike glycoprotein // J Virol. 2015 May 27. pii: JVI.00614-15. [Epub ahead of print]).

Китайские ученые (институт микробиологии, Пекин) совместно с американскими (Медицинское отделение Техасского университета, Галвестон) показали иммуногенность рекомбинантного белка, содержащего остатки 377-588 рецептор-связывающего домена БВРС-КоВ. В препарат введен адъювант MF59. Препарат вызывал у иммунизированных мышей образование вирус-нейтрализующих антител и активацию клеточного звена иммунитета (Jian Tang, Naru Zhang, Xinrong Tao, et al. Optimization of antigen dose for a receptor-binding domain-based subunit vaccine against MERS coronavirus // Human Vaccines & Immunotherapeutics, Volume 11, Issue 5, 2015 pages 1244-1250).

В сентябре 2014 года фирма Greffex (США) запросила Национальный институт аллергии и инфекционных заболеваний (National Institute of Allergy and Infectious Diseases) о проведении доклинических испытаний вакцины против БВРС – GreMERSfi. Вакцина представляет собой рекомбинантный аденовирус, содержащий вставку поверхностного белка MERS (иммунизирующая доза  $3 \times 10^8$  геном эквивалентов) (<http://www.greffex.com/platform/>).

Фирма Novavax (США) сообщила о разработке вакцины на основе поверхностного (S) белка коронавируса MERS, используя технологии рекомбинантных вирусоподобных наночастиц (Novavax. Novavax produces MERS-CoV vaccine candidate. <http://www.novavax.com/download/releases/2013-06-06%20CoronaV%20FINAL%20PR.pdf> (Accessed on June 13, 2013)).

В обзоре 2015 года авторы указали на 2 причины того, что вакцины против БВРС медленно разрабатываются. Первая – это отсутствие животной модели, на которой можно проверить эффективность препарата, второе – это то, что из-за низкого числа случаев БВРС, фармацевтические компании имеют мало стимулов продвигать разрабатываемые препараты, так как расходы на клинические испытания очень высоки (Papaneri AB, Johnson RF, Wada J, Bollinger L, Jahrling PB, Kuhn JH. Middle East respiratory syndrome: obstacles and prospects for vaccine development // Expert Rev Vaccines. 2015 Apr 11:1-14. [Epub ahead of print]).

**COVID-19.** По информации ВОЗ к июлю 2020 года 23 вакцины против COVID-19 по всему миру находятся на разных стадиях клинических испытаний на людях, еще 140, включая 10 российских – находятся в стадии доклинических испытаний ([https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/novel-coronavirus-landscape-covid-19e7269232504f4ce8bb2fe20709e830bd.pdf?sfvrsn=4c9a242c\\_3&download=true](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/novel-coronavirus-landscape-covid-19e7269232504f4ce8bb2fe20709e830bd.pdf?sfvrsn=4c9a242c_3&download=true)).

Одними из первых приступили к клиническим испытаниям разработчики инактивированной вакцины – SinoVac и вакцины на основе рекомбинантного аденовируса ChAdOx1-nCov19 – Университет Оксфорда (<https://gmpnews.ru/2020/05/sredi-razrabatyvaemyx-vakcin-protiv-koronavirusa-eksperty-vydelyayut-mrnk-vakciny/>).

Китайская национальная биотехнологическая группа (CNBG), входящая в состав государственной китайской национальной фармацевтической группы (Sinopharm), провела

испытания I-II фазы экспериментальной вакцины против COVID-19 на людях; предварительные результаты показали безопасность и эффективность препарата. Экспериментальный препарат способствовал образованию высокого уровня антител у всех привитых участников клинического испытания фазы I/II. По сообщению компании, в испытании участвовало 1120 здоровых добровольцев.

### **Субъединичные вакцины**

Основными преимуществами субъединичных вакцин является то, что они индуцируют образование иммунитета без введения инфекционного агента, более безопасны, вызывают меньше побочных эффектов. Субъединичные вакцины стимулируют образование как Т-, так и В-клеточного ответа.

Компания Clover Biopharmaceuticals разработала и проводит доклинические испытания рекомбинантной субъединичной вакцины на основе тримера S-белка (S-тример) SARS-CoV-2 (Clover Biopharmaceuticals vaccines programs. Available from <http://www.cloverbiopharma.com/index.php?m=content&c=index&a=lists&catid=42>. Accessed 28 Feb. 2020). Для усиления иммуногенности препарата Clover Biopharmaceuticals заключило договор о партнерстве и фирмой GSK, которая предоставит адъювант для вакцины (CEPI and GSK announce collaboration to strengthen the global effort to develop a vaccine for the 2019-nCoV virus. Available from <https://www.gsk.com/en-gb/media/pressreleases/cepi-and-gsk-announce-collaboration-to-strengthen-the-global-effort-to-develop-a-vaccine-for-the-2019-ncov-virus/>. Accessed 28 Feb. 2020).

Университет Квинсленда (The University of Queensland) разработал субъединичную вакцину с использованием метода «молекулярного зажима» (“molecular clamp”). Это полипептид, используемый для поддержания конформации белков в экспериментальных вакцинах (“Significant step” in COVID-19 vaccine quest Available from <https://www.uq.edu.au/news/article/2020/02/significantstep%E2%80%99-covid-19-vaccine-quest>. Accessed 28 Feb. 2020). Полипептид стабилизирует поверхностный белок S и улучшает правильное распознавание антигена, вызывая более специфичный и сильный иммунный ответ.

### **ДНК вакцины**

ДНК-вакцины представляют собой инновационный подход в иммунологии, реализуемый с использованием прямого введения плазмиды, кодирующей целевые антигены, в клетку. Этот тип вакцин может использоваться как в профилактической, так и в терапевтической схеме применения. Существенно увеличила иммуногенность вакцин технология доставки ДНК с использованием электропорации (Sardesai NY, Weiner DB. 2011. Electroporation delivery of DNA vaccines: prospects for success. *Curr. Opin. Immunol.* 23: 421-429.).

Фирма Inovio Pharmaceuticals, в сотрудничестве с Beijing Advaccine Biotechnology начала доклинические испытания ДНК-вакцины (INO-4800) против COVID-19 (Inovio Accelerates Timeline for COVID-19 DNA Vaccine INO-4800. Available from <http://ir.inovio.com/news-andmedia/news/press-release-details/2020/Inovio-Accelerates-Timeline-for-COVID-19-DNA-Vaccine-INO-4800/default.aspx>. Accessed 03 Mar. 2020). Вакцина INO-4800 индуцирует активацию Т-клеток путем доставки ДНК плазмид, содержащих эпитопы белка S вируса SARS-CoV-2 (Inovio’s product pipeline Available from <https://www.inovio.com/product-pipeline>. Accessed 28 Feb. 2020). Фирма Inovio Pharmaceuticals проводит подготовку к I фазе испытаний в США и Китае с поддержкой со стороны Коалиции за готовность к эпидемии Инновации (Coalition for Epidemic Preparedness Innovations – CEPI) [dMAb Technology platform Available from <https://www.inovio.com/technology#dmab>. Accessed 28 Feb. 2020).

### **mРНК вакцины**

Технология создания вакцин на основе матричной РНК (мРНК-вакцины) становится одной из лидирующих среди технологий по разработке вакцин против COVID-19. Согласно аналитическим данным компании GlobalData, в настоящее время во всем мире разрабатывается 18 мРНК-вакцин. РНК-вакцины имеют ряд преимуществ перед традиционными профилактическими препаратами, это и способность запускать гуморальный и клеточный иммунитет (мультиплексный антиген), и улучшенные характеристики включения иммунного ответа (нет необходимости транспорта в ядро – экспрессия белка проходит непосредственно в цитоплазме, ускорение экспрессии белка по сравнению с трансфекцией ДНК), и безопасность (отсутствует риск интеграции в геном, экспрессия белка с мРНК продолжается ограниченное время), и технологичность (РНК для вакцины можно синтезировать быстро и в больших количествах). Технологии разработки и использования мРНК-вакцин быстро развиваются и используются для профилактики и лечения инфекционных и онкологических заболеваний.

Компания Moderna, Inc. начала фазу I клинических испытаний для мРНК-1273 – мРНК-вакцины, кодирующей белок S вируса SARS-CoV-2. Вакцина разработана в сотрудничестве с Национальным институтом аллергических и инфекционных болезней (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID) (Moderna's pipeline Available from <https://www.modernatx.com/pipeline>. Accessed 28 Feb. 2020). В отличие от обычных вакцин, которые производятся в системе клеточных культур, мРНК-вакцина фирмы Moderna, Inc. разработана *in silico* (mRNA platform: Enabling Drug Discovery & Development Available from <https://www.modernatx.com/mrna-technology/mrna-platform-enabling-drug-discovery-development>. Accessed 28 Feb. 2020). Кандидатная вакцина mRNA-1273 от компании Moderna завершает сейчас II фазу исследования, и в августе начнется III фаза клинических испытаний. Moderna была первой компанией, которая начала проверку своей вакцины на людях еще 16 марта.

Компании BioNTech и Pfizer уже инициировали клинические исследования I/II фазы для своей BNT162 вакцинной программы в Германии. Испытания BNT162 также будут проводиться в США и в Китае.

Семь других кандидатов на мРНК-вакцину находятся на доклинической стадии разработки. Ожидается, что вакцины-кандидаты от Stemirna Therapeutics, Imperial College London, Curevac и Arcturus Therapeutics перейдут в клинические испытания этим летом.

## **Другие вакцины**

Фирма Genexine Inc. разрабатывает вакцину против COVID-19 с использованием технологии платформы Hyleukin-7 (hyFc platform. Available from <http://www.genexine.com/m21.php>. Accessed 20 Feb. 2020). Платформа Hyleukin-7 усиливает иммунные реакции путем слияния интерлейкина-7 (IL-7) с hyFc, сконструированного из IgD и IgG4, для пролонгированное действие белков слияния Fc – Fc-fusion protein (Seo YB, Im SJ, Namkoong H, Kim SW, Choi YW, Kang MC, et al. 2014. Crucial roles of interleukin-7 in the development of T follicular helper cells and in the induction of humoral immunity. J. Virol. 88: 8998-9009). IgD имеет гибкую шарнирную структуру, которая увеличивает биологическую активность Fc-fusion protein. IgG4 имеет неэкспонированный сайт соединения, что сводит к минимуму неблагоприятную иммуногенность путем предотвращения антителозависимой клеточной цитотоксичности (antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC) и комплемент-зависимая цитотоксичность (complement-dependent cytotoxicity, CDC) (Lee JH, Cho JH, Yeo J, Lee SH, Yang SH, Sung YC, et al. 2013. The pharmacology study of a new recombinant TNF receptor-hyFc fusion protein. Biologicals 41: 77-83; Loset GA, Roux KH, Zhu P, Michaelsen TE, Sandlie I. 2004. Differential segmental flexibility and reach dictate the antigen binding mode of chimeric IgD and IgM: implications for the function of the B cell receptor. J. Immunol. 172: 2925-2934). Фирма

Genexine Inc. сообщила об успешном использовании платформы Hyleukin-7 на модели гриппа А (Kang MC, Park HW, Choi DH, Choi YW, Park Y, Sung YC, et al. 2017. Plasmacytoid dendritic cells contribute to the protective immunity induced by intranasal treatment with Fc-fused interleukin-7 against lethal influenza virus infection. *Immune Netw.* 17: 343-351).

При разработке и испытании ряда вакцин, например, вакцин против лихорадки Зика и денге, исследователи сообщали об антитело-зависимом усилении инфекции (Khandia R, Munjal A, Dhama K, Karthik K, Tiwari R, Malik YS, et al. 2018. Modulation of Dengue/Zika Virus pathogenicity by antibody-dependent enhancement and strategies to protect against enhancement in Zika Virus infection. *Front Immunol.* 9: 597).

Хотя возникновение антитело-зависимого усиления инфекции при COVID-19 еще не продемонстрировано, эффект был показан при моделировании инфекции MERS и SARS in vitro (Wan Y, Shang J, Sun S, Tai W, Chen J, Geng Q, et al. 2020. Molecular mechanism for antibody-dependent enhancement of coronavirus entry. *J. Virol.* 94(5). pii: e02015-19; Wang SF, Tseng SP, Yen CH, Yang JY, Tsao CH, Shen CW, et al. 2014. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 451: 208-214). Для того, чтобы избежать побочных эффектов антитело-зависимого усиления инфекции при разработке вакцины использовались различные подходы. Например, в качестве антигена использовали нуклеокапсидный (N) белок. Так как белок N не является поверхностным белком вируса, антитела, индуцированные на N-белок, не смогут усиливать проникновение вируса в клетку.

В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора разработана вакцина против вируса SARS-CoV-2 на основе химически синтезированных пептидов, конъюгированных на белок-носитель и адсорбированных на алюминия гидроксиде, суспензия для внутримышечного применения вакцина «ЭпиВакКорона». Проектирование пептидов проводили методами компьютерного моделирования на основе трехмерной структуры тримера оболочечного белка S нового коронавируса. В состав вакцины были включены эпитопы, которые в результате иммунизации индуцируют протективные антитела.

## Генотипирование

Анализ геномов SARS-CoV-2, полученных в период с 24 декабря 2019 года по 3 февраля 2020 года, показал, что скорость эволюции составляет  $1,19 - 1,31 \times 10^{-3}$  замен на сайт в год. Вирус летучих мышей BetaCoV/bat/Yunnan/RaTG13/2013 имеет больше сходства с вирусом SARS-CoV-2, чем коронавирус панголинов (SRR10168377 и SRR10168378). В вирусе SARS-CoV-2 была обнаружена уникальная вставка (PRRA), которая может участвовать в протеолитическом расщеплении белка S клеточными протеазами, в геноме коронавируса панголина мотива RRAR нет. Авторы делают вывод, что вирус SARS-CoV-2, произошел не от панголинов (Li X., Zai J., Zhao Q., Nie Q., Li Y., Foley B.T., Chaillon A. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2 // *J. Med. Virol.* 2020. Early View. 27 Febr., с. 1-10. DOI: 10.1002/jmv.25731).

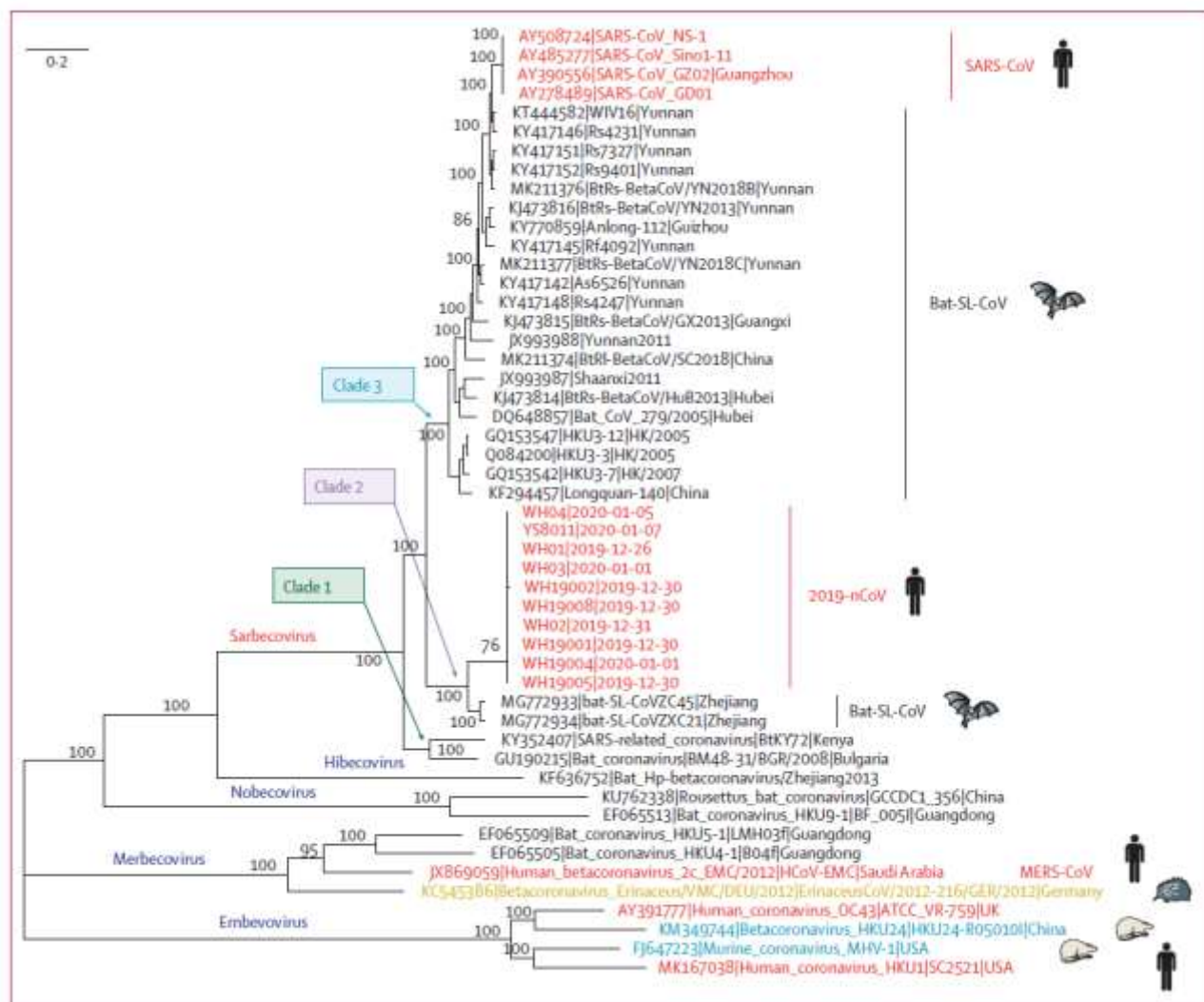


Рис. 31. Филогенетический анализ полноразмерных геномов SARS-CoV-2 (2019-nCoV) и репрезентативных вирусов рода Betacoronavirus. MERS-CoV – коронавирус, вызывающий ближневосточный респираторный синдром. SARS-CoV – коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (Roujian Lu\*, Xiang Zhao\*, Juan Li\*, Peihua Niu\*, Bo Yang\*, Honglong Wu\*, Wenling Wang, Hao Song, Baoying Huang, Na Zhu, Yuhai Bi, Xuejun Ma, Faxian Zhan, Liang Wang, Tao Hu, Hong Zhou, Zhenhong Hu, Weimin Zhou, Li Zhao, Jing Chen, Yao Meng, Ji Wang, Yang Lin, Jianying Yuan, Zhihao Xie, Jinmin Ma, William J Liu, Dayan Wang, Wenbo Xu, Edward C Holmes, George F Gao, Guizhen Wu, Weijun Chen, Weifeng Shi, Wenjie Tan). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding //Lancet, 22–28 February 2020, Volume 395, Issue 10224, , Pages 565-574, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)

Генотипирование изолятов вируса позволяет проследить пути передачи инфекции и определить источники ввоза, что в совокупности с данными классической эпидемиологии помогает лучше контролировать заболевание. Генотипирование позволяет уточнить происхождение и изменчивость вируса, помогает отслеживать появление новых вариантов, обладающих высокой инфекционностью, ассоциированных с тяжелыми случаями, позволяет актуализировать диагностические тест-системы. Использование генотипирования SARS-CoV-2 показало, что на территории Российской Федерации преимущественно циркулируют варианты вируса, распространенные в странах Европы.

С начала пандемии были предприняты беспрецедентные усилия по изучению генетического разнообразия нового коронавируса SARS-CoV-2 – уже в феврале были расшифрованы тысячи геномов, а на конец августа в базу данных GISAID (<https://www.gisaid.org>) было

внесено более 85000 последовательностей, в том числе, более 75000 полногеномных. Уже с началом накопления генетической информации стала очевидной необходимостью систематизации и разработки схемы подразделения изолятов на субтипы. В настоящее время нет согласованной и общепринятой схемы, но наиболее широко для обозначения расширяющегося филогенетического разнообразия SARS-CoV-2 используются классификации, предложенные GISAID, SARS-CoV-2 lineages (<https://cov-lineages.org>) и Nextstrain (<https://nextstrain.org/ncov/>).

Все генетическое разнообразие подразделяется на отдельные клады, каждая из которых соответствует монофилетической группе на филогенетическом дереве. Клады обычно отражают попытку разделить филогению и генетическое разнообразие патогенов на набор группировок, которые примерно одинаково расходятся, взаимоисключающие и статистически хорошо подтверждены. Рамбо и коллеги (Rambaut, A., Holmes, E.C., O'Toole, Á. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>) разработали динамическую классификацию генетических линий SARS-CoV-2. Предложенная номенклатура позволяет своевременно и согласованно фиксировать местные и глобальные закономерности генетического разнообразия вирусов, отслеживать возникающие линии по мере их перемещения между странами и популяциями внутри каждой страны, позволяет учитывать разнообразие новых вирусов по мере их появления. В этой классификации основное внимание уделяется генетическим изменениям, связанным с важными эпидемиологическими и биологическими событиями. Стоит отметить, что авторы предпочитают использовать термин «линии», а не «клады», чтобы подчеркнуть динамичность изменений – возникновения и исчезновения определенных генотипов с течением времени.

Названия основных линий начинаются с буквы, в основе филогении SARS-CoV-2 лежат две линии: А и В. Лишь 2 нуклеотидные замены отделяют самые ранние вирусы линии А, такие как Wuhan/WH04/2020 (EPI\_ISL\_406801), от ближайших к ним вирусов летучих мышей (RaTG13 и RmYN02). К линии В относится вирус Wuhan-Hu-1 (MN908947). Дочерним линиям были присвоены числовые значения (например, А.1 или В.1). В статье описаны критерии определения новых линий, на момент публикации авторами данной классификации была идентифицирована 81 ЛИНИЯ (Rambaut, A., Holmes, E.C., O'Toole, Á. et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>). Информацию об актуальных линиях, их географическом распространении и временной динамике можно найти по адресу: <https://cov-lineages.org/descriptions.html>. Аннотация геномов в соответствии с данной классификацией может быть проведена с помощью программы PANGOLIN (<https://cov-lineages.org/pangolin.html>). На рисунке приведен общий вид филогенетического дерева изученных изолятов SARS-CoV-2, цветом обозначена принадлежность изолятов к различным линиям, показано соответствие между линиями и кладами, выделяемыми Nextstrain и GISAID.



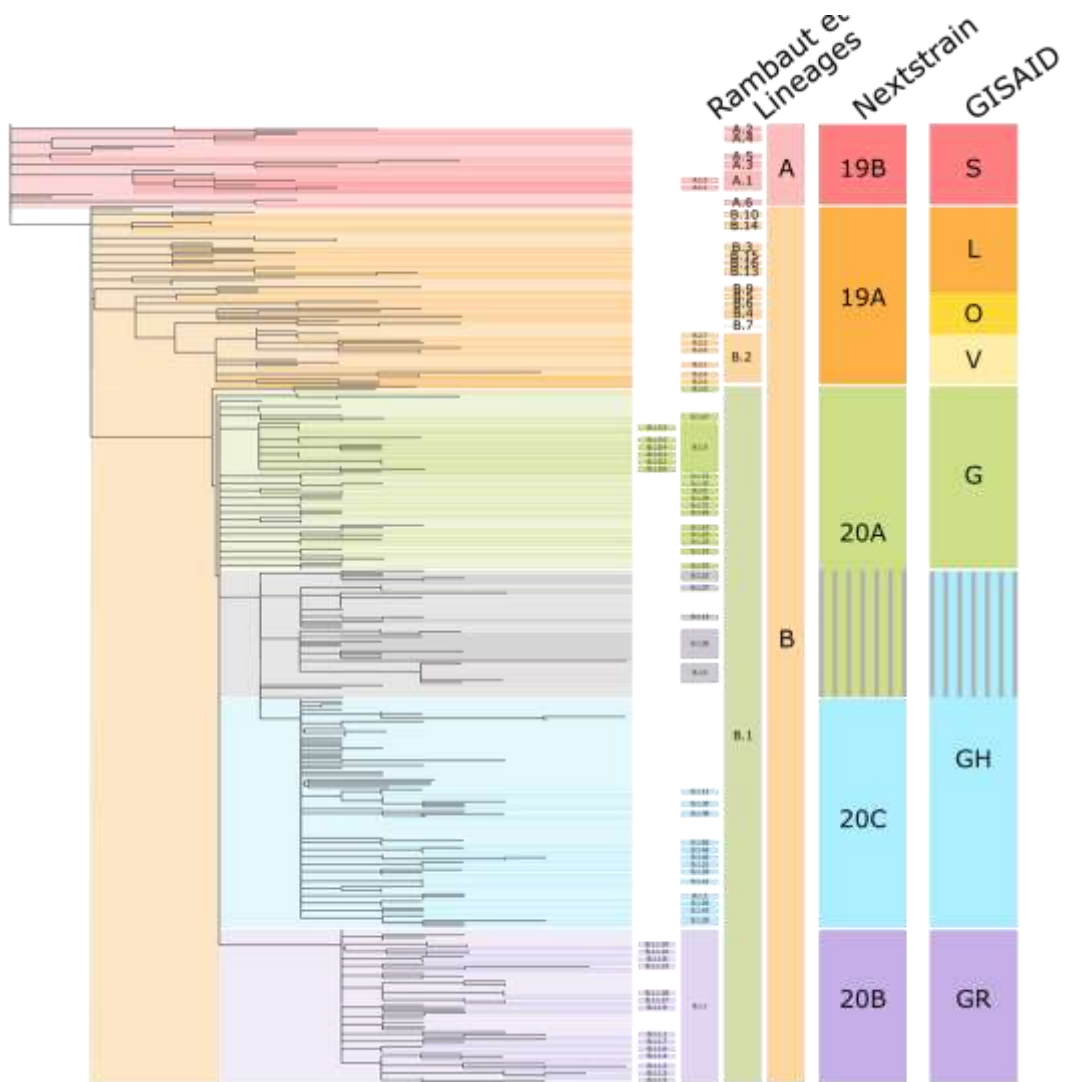


Рис. 32. Сравнение номенклатур, принятых GISAID, Nextstrain и Рамбо и др. Показано схематическое дерево, представляющее основные топологические особенности филогении SARS-CoV-2. Дерево покрашено в соответствии с основными линиями и кладами Nextstrain и GISAID. Иллюстрация из статьи (Alm E, Broberg EK, Connor T. et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. Euro Surveill. 2020;25(32):pii=2001410. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410>).

**Таблица 10. Географическое распространение основных линий SARS-CoV-2.**

Линии	Страны, регионы
А	Линия, положившая начало эпидемии. Происходит из Китая. Широко распространилась во многие страны мира; в том числе страны Юго-Восточной Азии, Японию, Южную Корею, Австралию, США и страны Европы.
А.1	Северо-Американская линия
А.2	Испания

A.3	США и Австралия
A.4	США
A.5	Испания, страны Латинской Америки
A.6	Таиланд
A.7, A.8, A.9	Индия
B	Линия происходит из Китая, получила широкое распространения в странах мира. Характеризуется двумя основными SNP: T8782C и C28144T.
B.1	Крупная европейская линия, соответствующая итальянской вспышке.
B.2	Крупная линия, в которую в настоящее время была включена линия B.7. Распространена в Европе и Гонконге.
B.3	Европейская линия
B.4	Иран
B.5, B.12	Япония
B.6	Очень широкое распространение – большое количество вариантов из Индии и Сингапура. Встречается в Юго-Восточной Азии, Северной Америке, Европе, Израиле, Гамбии, Тиморе-Лесте.
B.9	Австралия, Англия
B.10	Северная Ирландия, Англия, Шотландия
B.11	Нидерланды
B.13, B.14, B.17, B.19, B.20	США
B.15, B.21	Великобритания
B.16	Шотландия
B.18	Исландия, Англия
B.22	Дания

Наиболее полным ресурсом, содержащим информацию о подавляющем большинстве секвенированных генетических последовательностей SARS-CoV-2, является GISAID (<https://www.gisaid.org/>). Помимо самих нуклеотидных последовательностей и ассоциированных

метаданных предоставляются множественные выравнивания, регулярно обновляющиеся отчеты, содержащие информацию о филогении, принадлежности новых изолятов к определенным кладам и генетическим линиям, изменению частот встречаемости различных генотипов и их географическом распространении (рис. 33).

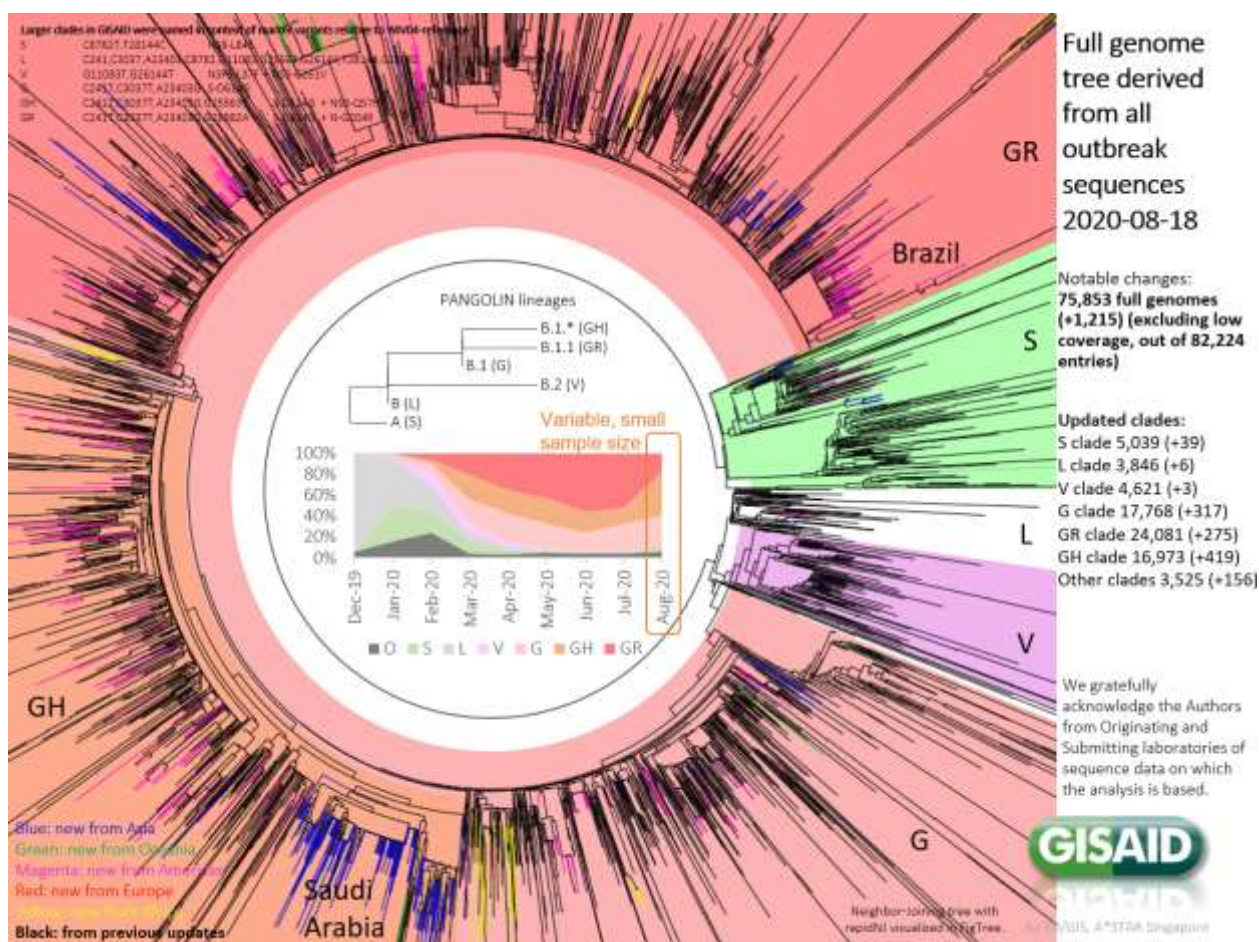


Рис. 33. Филогенетическое дерево, построенное для полногеномных последовательностей SARS-CoV-2, депонированных в базе GISAID. Показано разделение на клады (S, L, V, G, GR и GH) и их соответствие основным линиям (A, B, B.1, B.2, B.1.1 и B.1.\*); изменение частот встречаемости вирусов, принадлежащих различным кладам, с течением времени; региональная принадлежность новых последовательностей. Иллюстрация с сайта GISAID (<https://www.gisaid.org>).

Одним из важнейших источников информации о филогении, географическом распространении различных генотипов SARS-CoV-2 является ресурс Nextstrain (<https://nextstrain.org>), предназначенный для мониторинга эволюции различных патогенов (James Hadfield, Colin Megill, Sidney M Bell, John Huddlestone, Barney Potter, Charlton Callender, Pavel Sagulenko, Trevor Bedford, Richard A Neher, Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution, *Bioinformatics*, Volume 34, Issue 23, 01 December 2018, Pages 4121–4123, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>). В начале 2020 года на его основе был создан ресурс для анализа эволюции нового коронавируса, визуализации филогении и распространения различных генетических вариантов.

## Биологическая безопасность при работе с SARS-CoV-2, MERS, SARS

**Понятия биологической опасности и безопасности.** Инфекционное заболевание COVID-19 представляет существенную опасность для нормальных жизненных процессов всего мирового сообщества. Инфекционные агенты MERS-CoV, SARS-CoV-1 и патоген, вызывающий COVID-19 – вирус SARS-CoV-2 (ранее 2019-nCoV), относятся к вирусам 2-й группы патогенности согласно российскому классификатору инфекционных агентов (табл. 1), т.е. являются опасными инфекциями для здоровья человека.

Необходимо определиться в понятиях биологической опасности и безопасности. Опасность – явления, процессы, объекты, свойства предметов, способные в определенных условиях наносить ущерб здоровью человека непосредственно или косвенно. Опасности носят потенциальный характер. Для живых организмов опасность реализуется в виде травмы, заболевания, смерти. Согласно ГОСТ 12.0.003-74 ССБТ «Опасные и вредные производственные факторы. Классификация» опасные и вредные производственные факторы, действующие на исполнителя на рабочем месте, подразделяются по природе действия на следующие группы: физические, химические, биологические, психофизиологические.

Биологические опасные и вредные производственные факторы включают следующие объекты: патогенные микроорганизмы (бактерии, вирусы, риккетсии, спирохеты, грибы, простейшие) и продукты их жизнедеятельности, вредные растения и опасные животные.

Биологическая безопасность – система медико-биологических, организационных и инженерно-технических мероприятий и средств, направленных на защиту работающего персонала, населения и окружающей среды от воздействия патогенных биологических агентов.

Все программы по обучению методологии биологической безопасности состоят из рекомендаций по лабораторной практике, дизайну лабораторий, использованию средств индивидуальной защиты и безопасного оборудования. Соблюдение рекомендаций по биологической безопасности позволяет уменьшить риск и последствия развития лабораторных инфекций.

С целью обеспечения биобезопасности лабораторных работ в различных странах используется принцип зонирования или категорирования помещений. Дифференциация рабочих помещений по зонам предусматривает создание на границах зон санитарных пропускников для персонала, в которых создаются защитные барьеры: набор специальных помещений, дезинфекционные мероприятия и аэродинамические режимы. В современных микробиологических производствах выполнение ряда операций диктует необходимость применения эффективных средств индивидуальной защиты (СИЗ). В зависимости от вида выполняемых работ используются различные типы специальных СИЗ (спецодежда – костюмы специального покрова, дополнительные средства защиты кожных покровов и органов дыхания: резиновые перчатки, фартуки, нарукавники, костюмы из пленочных материалов, респираторы, пневмошлемы, пневмокуртки, СИЗ изолирующего типа).

Классификация микроорганизмов, принятая в США, Канаде, Японии, Европе и большинстве других стран мира, а также используемая ВОЗ, отличается от существующей в Российской Федерации обратным порядком – микроорганизмы наиболее высокой степени патогенности отнесены к 4-й группе патогенности, а не к 1-й, как в РФ. Этой классификации соответствует градация уровней биологической безопасности (УББ, BSL) – с 1 по 4.

УББ (BSL) с 1 по 4 были установлены Центрами контроля заболеваний и Национальными институтами здравоохранения США на основании лабораторной практики, используемых методик, оборудования для обеспечения безопасной работы (1974 год). Данные уровни присваивают для обозначения биологической безопасности в зависимости от используемых в работе агентов и масштабов деятельности лаборатории.

УББ описываются сводом правил, в зависимости от групп патогенности лабораторных инфекций. Описание включает оборудование для безопасного хранения биологического материала и необходимые мероприятия, которые должен выполнять персонал лабораторий.

- УББ-1 (BSL-1): минимальный уровень микробиологической безопасности — полностью соответствует стандартным правилам работы в лаборатории. Рекомендован для работы с микроорганизмами, которые не вызывают развитие инфекций у здоровых взрослых, такими как, например, *Bacillus subtilis*.

- УББ-2 (BSL-2): используется при работе с микроорганизмами, вызывающими развитие инфекций различной степени тяжести у человека (*Salmonella* spp.). При выполнении стандартных микробиологических процедур с этими возбудителями можно работать на открытых лабораторных столах, особенно если используются первичные барьеры, такие как защитная маска, халат и перчатки. Возможно использование защитных микробиологических боксов и безопасной центрифуги.

- УББ-3 (BSL-3): используется для безопасной работы с опасными микроорганизмами, обычно передающимися аэрогенным путем, такими как *M. tuberculosis* и *C. burnetii*. Этот уровень предполагает строгое выполнение рекомендаций и наличие оборудования первого и второго класса безопасности, включая особые требования к оснащению лаборатории, такие как, например, соответствующая система вентиляции. Работа со всеми микроорганизмами, относящимися к УББ-3, должна осуществляться в защитных микробиологических боксах.

- УББ-4 (BSL-4): используется для работы с микроорганизмами, которые вызывают угрожающие жизни или неподдающиеся лечению инфекции, передающиеся преимущественно аэрогенным путем (например, вирусы геморрагических лихорадок). Работа с этими микроорганизмами проводится в защитных микробиологических боксах III класса или персоналом, одетым в защитные костюмы, полностью закрывающие тело, с автономной подачей кислорода и положительным давлением воздуха. Производственное оборудование полностью изолировано от других лабораторий и оснащено специальными системами вентиляции и уничтожения отходов.

Таблица 10.

**Критерии классификации микроорганизмов по группам риска, принятые ВОЗ**

Группа риска	УББ	Название группы риска	Оценка риска
Группа риска I	1	Отсутствие или низкая индивидуальная и общественная опасность	Микроорганизм, потенциально не являющийся возбудителем заболеваний человека или животных
Группа риска II	2	Умеренная индивидуальная опасность, низкая общественная опасность	Патогенный микроорганизм, который может вызвать заболевание, но не представляет серьезного риска для персонала, населения, домашнего скота или окружающей среды. Неосторожность в лаборатории может вызвать инфекцию, однако существуют доступные

			лечебные и профилактические меры. Риск распространения ограничен.
Группа риска III	3	Высокий индивидуальный и низкий общественный риск	Патогенный агент, который обычно вызывает серьезное заболевание человека или животных, но, как правило, не распространяется от больного к здоровому. Существуют эффективные лечебно-профилактические процедуры.
Группа риска IV	4	Высокий индивидуальный и общественный риск	Патогенный агент вызывает обычно серьезное заболевание у человека или животных и легко распространяется от больного к здоровому или опосредованно. Эффективных мер борьбы с патогенным агентом в большинстве случаев не существует (вакцин и средств лечения).

Основным принципом биологической безопасности при проведении работ с потенциально опасными возбудителями является снижение или исключение контактов патогенов с сотрудниками лабораторий, а также с объектами окружающей среды. Как показала многолетняя практика работ с возбудителями инфекционных заболеваний, достаточные УББ микробиологических объектов – лабораторий, научных центров, производств, обеспечиваются защитными барьерами. На рисунке 34 представлены основные защитные барьеры и соответствующие материальные потоки. Каждый из потоков может являться источником риска инфицирования персонала и внешней среды. Вероятность риска инфицирования персонала обусловлена различными факторами: видами микроорганизмов и их опасностью для человека, характером проводимых с микроорганизмами манипуляций (культивирование, центрифугирование, аэрозолирование, заражение животных и др.), надежностью функционирования инженерных систем безопасности, соблюдением сотрудниками правил противоэпидемического режима и др.

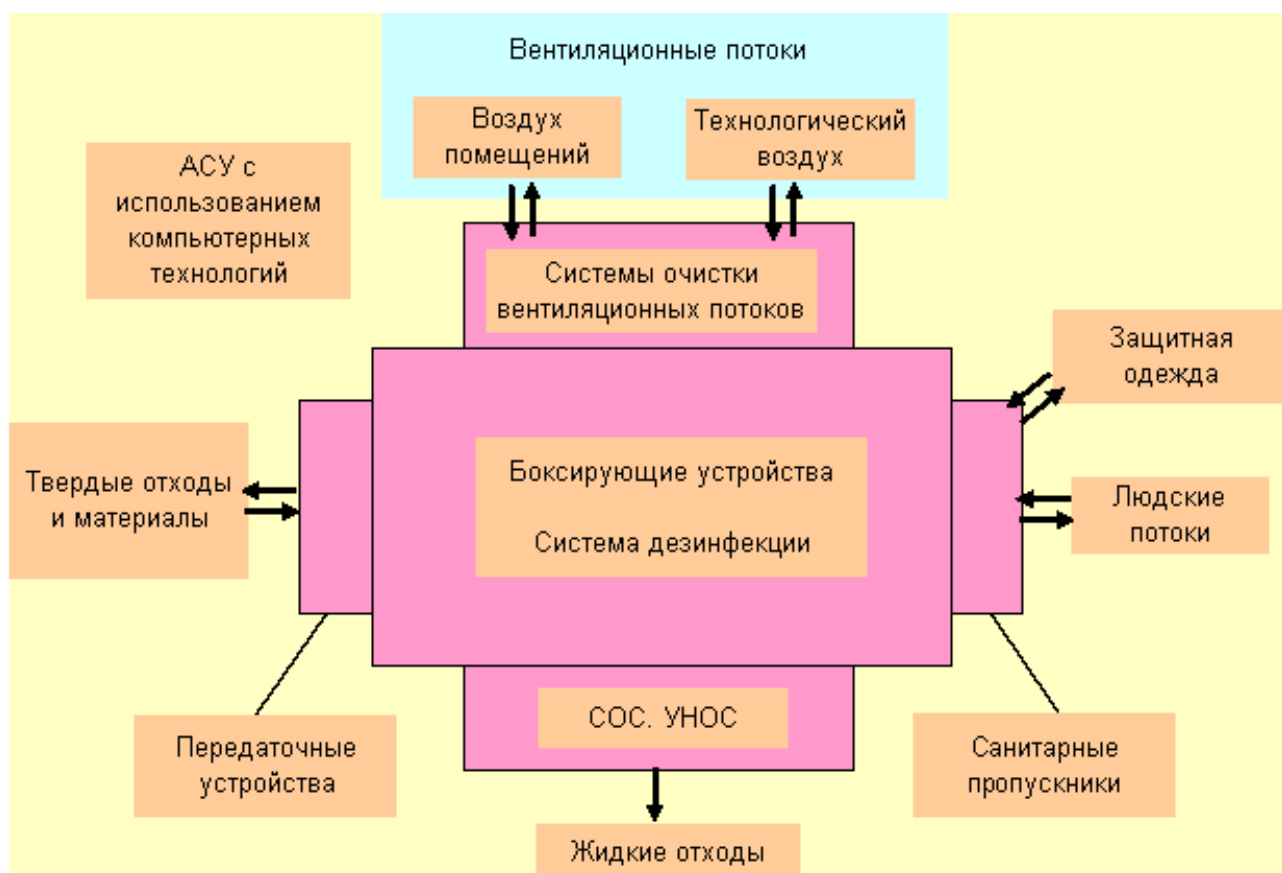


Рис. 34. Схема материальных потоков микробиологических производств. АСУ – автоматизированная система управления, СОС – станция обработки стоков, УНОС – установка непрерывной обработки стоков.

Абсолютная безопасность невозможна ни в одной области работы, тем более в биологии, где исследователи априори работают с генетически чужеродным материалом, в частности, с различными культурами клеток. Главным принципом биобезопасности является формирование рациональных навыков микробиологических исследований.

Знание основ обеспечения биологической безопасности, представление о возможных источниках заражения, свойствах используемых агентов, принципах функционирования защитных устройств и приспособлений, причинах возникновения аварий, а также владение навыками предупреждения и устранения таких ситуаций позволяет свести к минимуму значение «человеческого фактора» в возникновении лабораторных заражений. Это особо актуально в отношении работ с вирусами MERS, SARS и SARS-CoV-2, которые зарекомендовали себя как агенты, обладающие высокой степенью внутрибольничного распространения и выраженной контагиозностью.

**Классификация защитного оборудования.** Любые работы с опасным биологическим материалом и, в частности, с MERS, SARS и SARS-CoV-2, должны осуществляться в защитных микробиологических боксах. Современные защитные микробиологические боксы (боксирующие устройства) (табл. 12) представляют собой жесткие конструкции из нержавеющей стали, твердых алюминиевых сплавов, стекла и пластика. Выбор конструкции защитного бокса определяется степенью опасности для человека микроорганизмов, с которыми планируется работать, а также возможными уровнями аэрозолирования бактериальных частиц при выполнении операций и процессов.

Боксы микробиологической безопасности (БМБ), ламинары, шкафы, кабинеты микробиологической безопасности – специальное оборудование, предназначенное для защиты оператора, окружающей среды и продукта от биологически опасных объектов. Содержат блоки, обеспечивающие: освещение, ультрафиолетовое облучение (УФО), подачу стерильного воздуха, удаление и очистку воздуха на выходе.

Термин «ламинар» происходит от слова *ламинарный* – однородный, без завихрений, поскольку основной чертой ламинаров является создание однородного потока очищенного воздуха, благодаря которому в рабочем пространстве образуется зона для проведения стерильных работ.

Таблица 12.

#### Использование различных видов боксирующих устройств в лабораторной практике

Применение	Открытые ламинарные шкафы, защита продукта	БМБ класс I, защита оператора и окружающей среды	БМБ класс II, защита оператора, продукта и окружающей среды	БМБ класс III, защита оператора, продукта и окружающей среды
Микробиология		x	x	X
Вирусология		x	x	X
Молекулярная биология	x		x	
ПЦР	x			
Культуральные работы			x	X
Биотехнология	x		x	

Большое значение имеют БМБ, обеспечивающие защиту персонала, материалов и окружающей среды лаборатории (рис. 35). В них проводят основную лабораторную работу, связанную с посевом микроорганизмов и изучением их свойств, а также работу с животными (заражение, вскрытие), содержание инфицированных животных, центрифугирование ПБА, сушку, дезинтеграцию, другие операции с вероятным образованием аэрозоля, заражение культуры клеток и куриных эмбрионов, приготовление суспензий органов и тканей. В БМБ не должно быть лишних предметов. Столы в БМБ оборудуют металлическими нержавеющейими крышками для легкости стерилизации, а также газовыми горелками и обеспечивают подводку электроэнергии. Вход в БМБ устраивают через шлюз с раздвижной дверью — предбоксник, это исключает резкое перемещение воздуха.



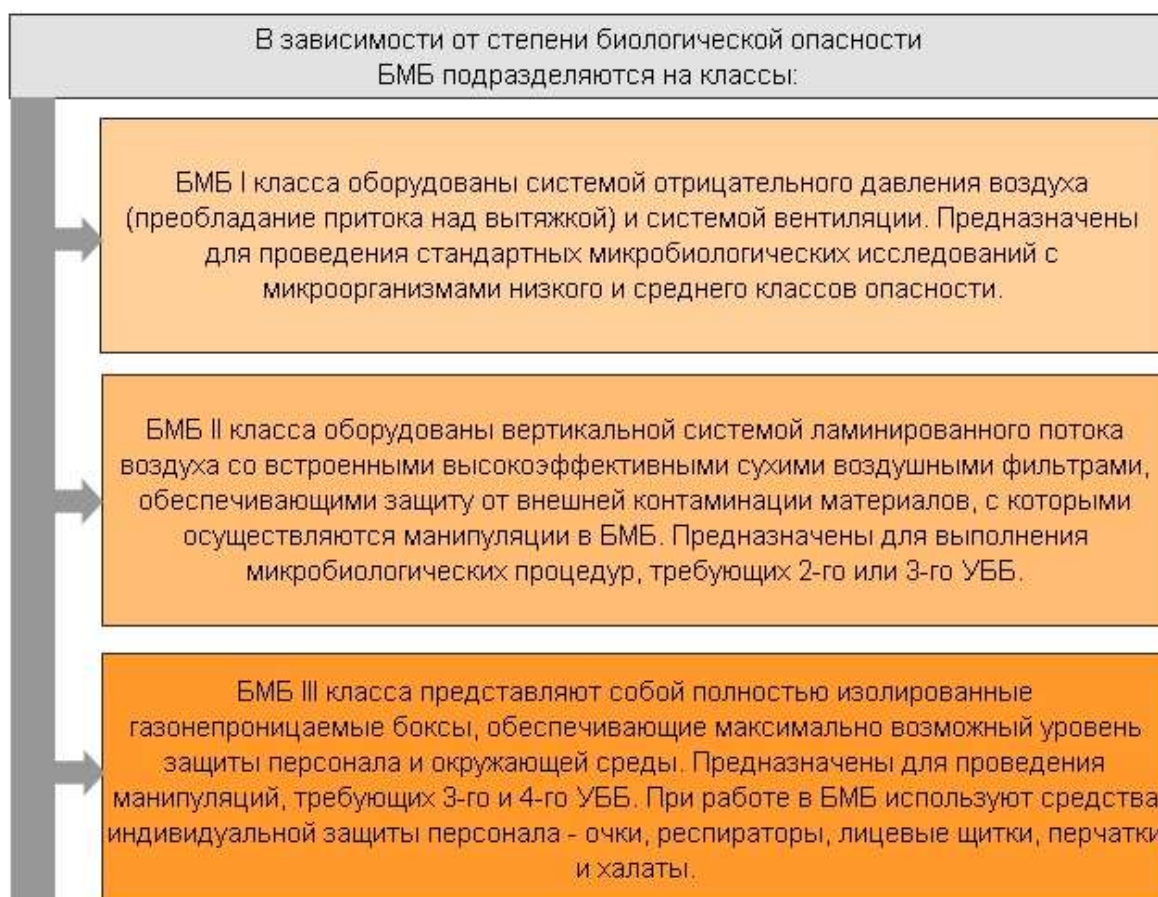


Рис. 35. Классификация БМБ.

**Правила безопасного поведения в «заразной» зоне микробиологической лаборатории.** При работе в заразной зоне микробиологической лаборатории **необходимо:**

- проводить тщательную обработку рук перед началом работы и после ее окончания;
- работать в медицинских халатах, пижамах (комбинезонах), шапочках, сменной обуви и пользоваться СИЗ в зависимости от характера выполняемых работ;
- обратить особое внимание на использование, условия хранения и уничтожение отработанных игл и других острых предметов — они должны уничтожаться в специальных контейнерах для того, чтобы уменьшить риск травмы;
- при проведении работ с биологически опасным материалом использовать латексные перчатки подходящего размера;
- использовать маски и защитные очки при вскрытии трупов животных, когда имеется высокая вероятность случайного контакта с кровью и биологическими жидкостями животного;
- дезинфицировать рабочие поверхности ежедневно и при случайном попадании биологического материала;
- потенциально инфицированные отходы хранить отдельно и уничтожать их в прочных маркированных мешках для биологически опасного материала (отходы класса В).

В помещении лаборатории **запрещается:**

- хранить верхнюю одежду, головные уборы, обувь, зонты, хозяйственные сумки, косметику и т.п., а также продукты питания;
- принимать пищу, пить, жевать жевательную резинку и курить в лаборатории;
- хранить пищевые продукты в холодильных камерах, используемых для хранения клинического материала;
- проводить пипетирование ртом, переливать жидкий инфекционный материал через край сосуда (пробирки, колбы, флакона и др.);
- удалять необеззараженные сгустки крови из пробирок, флаконов встряхиванием;
- оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любого вида работ с ПБА;
- оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с ПБА;
- сливать жидкие отходы (инфицированные жидкости, исследуемый материал и т.д.) в канализацию без предварительного обеззараживания.

**Подготовка к микробиологическому исследованию.** В микробиологической практике значительная часть исследований проводится с чистой культурой — популяцией клеток одного микроорганизма, поэтому важным является не допустить попадания в рабочие образцы посторонних микроорганизмов.

Микробиологическая лаборатория должна содержаться в полной чистоте — необходимо регулярно проводить гигиеническую уборку лабораторных помещений. Перед работой проводят дезинфекцию помещения — уничтожение возбудителей инфекционных болезней или стерилизацию, когда при обработке погибают не только патогенные, но и сапрофитные бактерии.

#### • Пол, стены и стационарное оборудование

Поверхности дезинфицируют, протирая тряпкой, смоченной 2–3%-ным раствором соды (бикарбоната натрия), 3–5%-ным раствором фенола (карболовой кислоты) или лизола (препарат фенола с добавлением зеленого мыла), 0,5–3%-ным водным раствором хлорамина или другими аналогичными дезинфектантами.

#### • Воздух

Начальным этапом является вентиляция помещения в течение 30–60 мин, что приводит к резкому снижению количества микроорганизмов в воздухе, особенно при значительной разнице в температуре между наружным воздухом и воздухом помещения.

Следующий этап — обработка помещения УФО (200–400 нм). УФО обладает высокой антимикробной активностью и вызывает гибель не только вегетативных клеток, но и спор микроорганизмов. Воздействие УФО должно быть направленным и длительным (от 30 мин до нескольких часов), в связи с тем, что УФО обладает слабой проникающей способностью — не проходит через обычное стекло и легко поглощается частицами пыли.

В микробиологических лабораториях используют бактерицидные лампы, представляющие собой трубки различного диаметра и длины, изготовленные из специального стекла, пропускающего излучение с длиной волны 254 нм.

УФО может вызывать тяжелые ожоги глаз — необходимо строго следить за тем, чтобы ни прямые, ни отраженные ультрафиолетовые лучи не попадали в глаза. В небольших помещениях при включенной бактерицидной лампе находиться нельзя.

#### • Рабочее место

Рабочий стол подвергают дезинфекции растворами лизола или хлорамина, а также 70%-ным (по объему) раствором этилового спирта.

**Уборка помещений лаборатории после окончания работы.** Текущая уборка помещений проводится ежедневно влажным способом после окончания рабочего дня: в «чистой» зоне лаборатории с применением моющих средств, в «заразной» зоне с применением дезинфектантов.

В лаборатории должен храниться минимум недельный запас дезинфицирующих средств. Методы и средства обеззараживания определяются в каждом отдельном случае в зависимости от вида ПБА и характера обеззараживаемого материала.

Уборочный инвентарь должен быть промаркирован отдельно для «чистой» и «заразной» зон. Перенос его из зоны в зону не допускается.

В боксированном помещении должна проводиться еженедельная генеральная уборка с применением дезинфицирующих средств путем протирания поверхности мебели, приборов, аппаратов, а также стен (на высоту до 2 метров).

Стеклоочистительные поверхности бактерицидных ламп следует протирать ветошью, смоченной спиртом, не реже 1-го раза в неделю.

После влажной уборки включают бактерицидные лампы.

Отработанный материал с ПБА обеззараживается автоклавированием. Перенос материала для обеззараживания внутри подразделения производится в специальных емкостях (баках, ведрах, биксах с крышками). Емкости должны быть подписаны и опечатаны. Ведется специальный журнал по уничтожению отходов.

#### **Рекомендации для безопасной работы:**

- Соблюдайте правила асептики при работе с клетками.
- Ведите учет образцов используемых тканей и культур.
- Соблюдайте требования соответствующих инструкций по работе с биологическими образцами.
- Используйте СИЗ (перчатки, лабораторную спецодежду, соответствующую обувь), предупреждающие таблички (типа «Не входить! Идет эксперимент»).
- Не носите защитную одежду вне лаборатории.
- Всегда мойте и дезинфицируйте оборудование после использования.
- Во все время проведения экспериментов держите двери лаборатории закрытыми.
- Поддерживайте личную гигиену – мойте руки, убирайте волосы под колпак или косынку.
- Не касайтесь лица, волос, мобильных телефонов руками в перчатках.
- Не ешьте, не пейте, не курите в лаборатории.
- Избегайте лишних разговоров, работая в боксе.
- Никогда не пипетируйте ртом.
- Всегда используйте пипетки с ватиком или фильтром, наконечники для автоматических пипеток с фильтрами.
- При пипетировании избегайте образования пузырей.
- Не смешивайте жидкости в пипетке.

- Помещайте пластиковые пипетки и наконечники автоматических пипеток после использования в контейнер с дезинфицирующим раствором.
- Автоклавируйте контаминированную посуду и материалы в специальных контейнерах.
- Используйте одноразовые шприцы.
- Никогда не надевайте колпачок на иглу шприца.
- После использования острых предметов помещайте их в специальный контейнер.
- Соблюдайте правила работы в лабораториях и в БМБ.

Помещения общего пользования также необходимо содержать в чистоте и порядке. Все растворы и сосуды в термостатах, CO<sub>2</sub>-инкубаторах, холодильниках, шкафах должны быть маркированными. Обнаруженный немаркированный, неидентифицируемый материал должен быть уничтожен. Работы, связанные с преднамеренным инфицированием клеток, выполнять в соответствии с требованиями санитарных правил (СП 1.3.1285-03, СП 1.3.2322-08, СП 1.2.036-95).

Для новых сотрудников, присоединяющихся к работе, обязательно проведение надлежащего обучения.

**Пути заражения лабораторными инфекциями.** Существуют следующие пути заражения лабораторными инфекциями:

1. Аэрогенный — при смешивании, встряхивании, растирании, перемешивании биологически опасного материала, а также при обжиге микробиологической петли возможно образование микробных аэрозолей. Поэтому помимо микроорганизмов, передающихся аэрогенно, в лаборатории аэрогенным путем могут распространяться микроорганизмы, для которых этот путь инфицирования не является естественным.

Для предотвращения образования опасных аэрозолей используется дополнительное оборудование, такое как крышки безопасности на центрифугах, предотвращающие попадание микроорганизмов в окружающую среду при центрифугировании.

2. Алиментарный — попадание патогенных агентов через пищеварительную систему происходит в случае несоблюдения гигиенических норм на рабочем месте: прием пищи, курение, недостаточная обработка рук перед едой, пипетирование ртом, неосознанные действия, приводящие к контакту рук со ртом (обкусывание ногтей), попадание контаминированных предметов (карандашей).

3. Контактный — попадание брызг биологически опасной суспензии на слизистые оболочки глаз, носа и рта, прикосновение контаминированных рук к лицу может приводить к инфицированию.

4. Парэнтеральный — инокуляция инфицированного материала в результате случайного прокола иглой, пореза лезвием или осколками разбитой стеклянной посуды.

**Обеспечение личной безопасности работников.** Персонал микробиологической лаборатории при работе подвергается риску инфицирования патогенными микроорганизмами, которые могут вызвать болезни различной степени тяжести — от субклинических до угрожающих жизни.

В настоящее время, несмотря на ряд разработанных правил и практических рекомендаций, продолжают регистрироваться лабораторные инфекции. Частота лабораторных инфекций среди персонала лабораторий стационаров составляет около 3 случаев на 1000 человек. Наиболее распространенные возбудители лабораторных инфекций — *M. tuberculosis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Salmonella typhi*, *Brucella melitensis* и *Chlamydia* spp. Поэтому

необходимо обращать пристальное внимание на своевременное проведение соответствующих инструктажей и проверки знаний персонала правил лабораторной безопасности.

Таким образом, стратегия профилактики лабораторных инфекций должна быть направлена на сдерживание распространения биологически опасных агентов, а также на проведение образовательных программ среди персонала лабораторий по вопросам, касающимся профессионального риска инфицирования. Персонал лабораторий должен знать о потенциальной опасности инфекционных агентов/материалов. В особенности это касается опасных для человека патогенов, в т.ч. MERS, SARS и SARS-CoV-2.

Предотвращение распространения опасных биологических агентов возможно при строгом соблюдении стандартных правил работы в лаборатории и техники манипуляций в сочетании с использованием первичных (безопасное оборудование) и вторичных барьеров (специальный дизайн оснащения лаборатории). Все работы с вирусами MERS, SARS и SARS-CoV-2 должны проводиться в лабораториях с УББ 3 и УББ 4.

**Средства индивидуальной защиты (СИЗ).** СИЗ – это устройства, изделия, оборудование и системы, которые работник надевает или как-то иначе использует в работе, чтобы обеспечить свою безопасность и защитить здоровье от влияния одного или нескольких факторов риска среды труда.

СИЗ подразделяются на следующие категории:

- средства защиты органов дыхания – респираторы (класса защиты FFP2 или FFP3) и противогазы;
- средства защиты органов зрения и лица - защитные очки и экраны;
- средства защиты волосяного покрова головы – медицинские шапочки, колпаки, косынки;
- средства защиты кожи рук – перчатки;
- средства защиты поверхности тела - халаты, пижамы, комбинезоны, нательное бельё (включая носки)
- средства защиты ног - тапочки, сапоги, бахилы.

Также существуют специальные изолирующие СИЗ (ИСИЗ) – костюмы из прорезиненной ткани с системой автономного дыхания – «Антибелок-5», «Х-Віо», пневмошлем «ЛИЗ-4», а также костюмы «Корунд», «Л-1», дополняемые противогазами, или аналоги.

Обхват руки, см		Размер перчаток
16,5		6
17,5		6,5
19		7
20,5		7,5
22		8
23		8,5
24		9
26		9,5
27		10

Рис. 36. Определение размера перчаток.



Рис. 37. Правильный порядок снятия перчаток.

### Дезинфекция различных объектов. Средства и методы

Дезинфекцию различных объектов при работе с ПБА осуществляют различными методами: физическими (кипячение, водяной насыщенный пар под избыточным давлением, сухой горячий воздух, УФО) и химическими (использование растворов дезинфицирующих средств).

Для дезинфекции допускается использование только дезинфицирующих средств (ДС) и оборудования (дезинфекционные камеры, паровые и воздушные стерилизаторы, распыляющие устройства, установки, бактерицидные облучатели, моечные машины, бактериальные фильтры, стерилизационные коробки и т.д.).

При проведении дезинфекции предпочтение следует отдавать физическому методу вследствие его надежности и безопасности для персонала.

Дезинфекции способом кипячения подвергают посуду, в том числе лабораторную, белье, защитную одежду персонала, перчатки резиновые, резиновые шланги, пробки, груши для пипетирования зараженного материала, инструменты.

Паровым методом обеззараживают посуду лабораторную, защитную одежду персонала, бактериологические посеvy, банки и бачки для животных, подстилочный материал, выделения животных, остатки корма, металлические садки, воздушные бактериальные фильтры, жидкие отходы, смывные воды.

Дезинфекции воздушным методом подвергают лабораторную посуду из стекла, металлов, силиконовой резины без упаковки. Этим методом дезинфицируют посуду, не загрязненную органическими веществами.

Паровоздушным методом в дезинфекционных камерах обрабатывают ватные куртки, брюки, постельные принадлежности, полушубки, шапки, кожаную и меховую обувь, тапочки.

С использованием дезсредств проводят обеззараживание ограниченных участков почвы, поверхностей в помещениях, мебели, оборудования, защитной одежды персонала, белья, перчаток резиновых, очков, обуви, посуды лабораторной (пипетки, пробирки, колбы, чашки Петри, предметные стекла, гребенки для сушки культур, шприцы и др.), инструментов, металлических ящиков, садков, воздушных фильтров, подстилочного материала, жидких отходов, смывных вод, выделений больного (мокрота, моча, фекалии), посуды из-под выделений больного, санитарно-технического оборудования, уборочного материала, мусорных ящиков, транспорта.

Для дезинфекции применяют средства, содержащие в качестве действующих веществ активный кислород (перекисные соединения и др.), катионные поверхностно-активные вещества, хлорактивные соединения, альдегиды, спирты (этанол, пропанол и др.), чаще всего в виде многокомпонентных рецептур, содержащих одно или несколько действующих веществ и функциональные добавки (антикоррозионные, дезодорирующие, моющие и др.).

Выбор ДС определяется спецификой объектов, подлежащих обеззараживанию, и целевым назначением средства.

При проведении текущей и генеральной уборки с применением растворов ДС поверхности в помещениях, приборов, оборудования и др. дезинфицируют способом протирания тканевой салфеткой или ветошью, смоченной раствором ДС. Для этих целей целесообразно использовать дезинфицирующие средства с моющим эффектом. При необходимости экстренной обработки в течение рабочего дня небольших по площади или труднодоступных поверхностей возможно применение готовых форм ДС, например, на основе спиртов, для которых характерно короткое время воздействия, с помощью ручных распылителей или способом протирания растворами ДС, нанесенными на ветошь, или готовыми к применению дезинфицирующими салфетками. Применение ДС с моющими свойствами позволяет объединить обеззараживание объекта с его мойкой, поэтому при проведении текущих и генеральных уборок применяют ДС, обладающие моющим действием.

Для дезинфекции выделений (фекалии, мокрота и др.) и посуды из-под выделений используют, в основном, хлорактивные средства.

Для дезинфекции столовой посуды, спецодежды и белья используют средства, не содержащие альдегидов, спиртов.

Для дезинфекции изделий медицинского назначения и лабораторной посуды применяются средства на основе альдегидов, катионных поверхностно-активных веществ, перекиси водорода, хлорсодержащие средства. Дезинфекцию изделий и посуды проводят способом погружения в раствор дезинфицирующего средства. Разъемные изделия дезинфицируют в разобранном виде. Каналы и полости изделий заполняют дезинфицирующим раствором.

Для дезинфекции металлических ящиков, садков, бачков из-под вскрытых животных и орудий лова используют средства на основе альдегидов, катионных поверхностно-активных веществ, перекиси водорода, спиртов, хлорсодержащие средства. Дезинфекцию проводят способами протирки в соответствии с режимами, рекомендованными для обеззараживания поверхностей, или способом погружения - в соответствии с режимами, рекомендованными для обеззараживания изделий медицинского назначения в Инструкциях по применению средств.

Обеззараживание медицинских отходов классов Б и В (белье, маски, спецодежда, салфетки, изделия медицинского назначения однократного применения – пластиковые пробирки, наконечники для пипеток, флаконы и др.) перед утилизацией осуществляют в местах их образования способом погружения в растворы ДС в соответствии с санитарными правилами и нормами "Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений" (рис. 38). Для дезинфекции медицинских отходов применяют химический и физический методы обеззараживания по режимам, обеспечивающим гибель соответствующих возбудителей. Дезинфекция выделений, крови, мокроты и др. проводится также сухими хлорактивными ДС (хлорная известь, кальция гипохлорит нейтральный и пр.). Допустимо одновременное обеззараживание и утилизация медицинских отходов с использованием установок, разрешенных к применению в установленном порядке.



Рис. 38. Утилизация отходов, инфицированных ПБА (отходы класса В), на примере пластиковой пробирки

В лаборатории должен храниться как минимум недельный запас ДС. Вновь поступающие на склад партии ДС необходимо контролировать на содержание действующего вещества. Дезинфицирующие растворы готовят в специально отведенных помещениях или вытяжном



шкафу. На емкости с дезинфицирующим раствором должно быть указано его название, концентрация и дата приготовления.

Автоклавирование проводится персоналом, имеющим свидетельство об окончании специальных курсов. Контроль работы паровых и воздушных стерилизаторов, используемых для обеззараживания материалов, проводят согласно действующим инструктивно-распорядительным и методическим документам физическим, химическим и биологическим методами.

#### **Заключение по биологической безопасности при работе с MERS, SARS SARS-CoV-2**

Работа с ПБА проводится в специфических условиях, которые могут отрицательно влиять на здоровье работающих. Важнейшей особенностью этой работы является риск заражения патогенными микроорганизмами лабораторных работников и лиц, непосредственно контактирующих с ними, а также риск загрязнения окружающей среды. При лабораторных манипуляциях всегда существуют факторы риска, которые могут способствовать возникновению аварийных ситуаций при условии нарушения персоналом техники безопасности при проведении работ.

Существующие в настоящее время приёмы и правила работы с ПБА, конкретно: защитные устройства, противоэпидемические и технические мероприятия, определённый уровень автоматизации в значительной мере **обеспечивают предотвращение** внутрилабораторных заражений, но полностью исключить их не могут, на что указывают периодически возникающие случаи заболевания вследствие инфицирования при лабораторной работе. По этой причине параллельно развитию микробиологии постоянно разрабатываются и совершенствуются методы безопасной работы и средства защиты персонала и окружающей среды. Обеспечение биологической безопасности при работе с ПБА включает в себя 2 основных фактора: человеческий и технический.

**Технический фактор (факторы)** лежит в основе принципов создания микробиологических лабораторий, организации и проведения в них безопасной работы с ПБА:

- Дифференциация микроорганизмов, с которыми проводят работы в микробиологических лабораториях, по степени патогенности (опасности) для персонала;
- Организация движения воздушных и материальных потоков в микробиологических лабораториях "от менее грязного" в сторону "более грязного", исключение пересечения при этом "чистых" и "грязных" потоков;
- Зонирование помещений;
- Боксирование операций и процессов;
- Герметизация оборудования;
- Шлюзование и обработка материальных потоков на границах зон;
- Ограждающие строительные конструкции;
- Средства и системы очистки вентиляционного и технологического воздуха;
- Средства и системы обработки жидких отходов.

**Человеческий фактор (факторы)** - правильность действий человека в комплексе мер, обеспечивающих безопасное проведение работ с биоматериалом, в значительной степени обусловлена уровнем профессиональной подготовки и характерологическими особенностями индивидуума. Уровню профессиональной подготовки в настоящее время уделяется повышенное внимание во всех медицинских учреждениях и учреждениях биологического профиля.

Разрабатываются пакеты рекомендаций относительно работы с MERS, SARS и SARS-CoV-2, включая учебные ролики, в частности, по применению защитной одежды:

<https://youtu.be/MDTMp7hOChI>

Основное назначение такого учебного и методического материала – закрепление навыков безопасной работы с опасными биологическими агентами. А в основе подобных навыков лежит понимание персоналом своих действий в той или иной ситуации. Правильное надевание защитной одежды и правильное ее снятие после работы, приготовление и тестирование ДЗ, правильное замачивание в ДЗ различных видов инфекционного материала и посуды, в которой он находился, правильная утилизация полученных в ходе работы биологических отходов - обуславливают биологическую безопасность как внутри рабочей зоны, так и за ее пределами (рис. 9). Вкупе с проводимыми в РФ противоэпидемическими мероприятиями соблюдение биологической безопасности всеми предприятиями и учреждениями, связанными так или иначе с изучением SARS-CoV-2 (2019-nCoV), должно способствовать и уже способствует снижению уровню распространения COVID-19 на территории РФ.



Рис. 39. Факторы биологической безопасности при работе с SARS-CoV-2 (2019-nCoV).

#### Список литературы по разделу Биологическая безопасность

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285-03.
2. Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 (в ред. Дополнений и изменений N 1, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 02.06.2009 N 42).

3. Биологическая безопасность в микробиологических и биолого-медицинских лабораториях. Департамент Здравоохранения США, Служба Общественного Здоровья США, Центр по Контролю и Профилактике Заболеваний США (CDC) и Национальный Институт Здоровья США (NIH). Публикация NNS No. (CDC) 93-8395, Вашингтон: – Изд-во Правительства США, 1993. - 83 с.
4. Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях – США, 5-е издание, 2007 г.
5. Вашков В.И. Антимикробные средства и методы дезинфекции при инфекционных заболеваниях. – М.: Медицина, 1997. – 296 с.
6. Основы биологической безопасности в лабораториях – Канада, 3-е издание, 2004.
7. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях/ С.Г. Дроздов, Н.С. Гарин, Л.С. Джиндоян, В.М. Тарасенко. – АМН СССР. – М.: Медицина, 1987. – 256 с.
8. Пименов Е.В. Система микробиологической безопасности как часть системы национальной безопасности России // Сб. науч. тр., посвященный 75-летию НИИ микробиологии МО РФ. – 2003. – С. 5 – 7.
9. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях / Всемирная организация здравоохранения. – 3-е изд. – Женева, 2004. – 190 с.
10. Радаева И.Ф. и др. Коллекция культур клеток ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотреб-надзора: каталог. – Новосибирск: Цэрис, 2009. – 251 с.
11. Щербаков Г.Я. Основные угрозы для национальной биологической безопасности. – Доклад 1 Международная конференция «Молекулярная медицина и биобезопасность», Москва, 26 октября 2004. Молекулярная медицина, 2004. – С.49 – 53.

## **Литература:**

В обзоре использованы материалы обзоров, статей, интернет-сайтов.