

«Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций»
Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр
вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека

на правах рукописи



Алимов Александр Викторович

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
И КОНТРОЛЯ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ**

14.02.02 – эпидемиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН,
Акимкин Василий Геннадьевич,

Доктор медицинских наук, профессор
Фельдблюм Ирина Викторовна

Екатеринбург – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1 ОБЩЕМИРОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	21
1.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика энтеровирусной (неполио) инфекции.....	21
1.2 Эпидемиологический надзор и контроль за энтеровирусной (неполио) инфекцией	37
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	72
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	72
2.1 Дизайн исследования	73
2.2 Материалы исследования	74
2.3 Методы исследования.....	78
2.3.1 Эпидемиологические	78
2.3.2 Математическое моделирование	80
2.3.3 Лабораторные	83
2.3.4 Статистические.....	95
ГЛАВА 3 ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ	97
3.1 Характеристика эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации	97
3.2 Особенности эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем заболеваемости (на примере Уральского Федерального округа и Западной Сибири)	124
3.2.1 Анализ заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса.....	125
3.2.2 Анализ заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса	140
ГЛАВА 4 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ	

СЕРОТИПОВ ЭНТЕРОВИРУСОВ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА ТЕРРИТОРИЯХ	153
4.1 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с различной интенсивностью эпидемического процесса	153
4.2 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции при различных клинических формах	162
4.2.1 Тяжелые клинические формы энтеровирусной (неполио) инфекции и формы энтеровирусной (неполио) инфекции по типу острого респираторного заболевания.	167
4.2.2 Локализованные клинические формы энтеровирусной (неполио) инфекции.	170
4.3 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции в разных возрастных группах населения	178
4.4 Филогенетический анализ актуальных геновариантов неполиомиелитных энтеровирусов	184
ГЛАВА 5 СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ЭТИОЛОГИИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ, СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА	188
5.1 Уровень и возрастная структура заболеваемости энтеровирусным менингитом	189
5.2 Особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди здоровых носителей (дети 3-6 лет)	191
5.3 Сравнительная характеристика циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в группе здоровых носителей (дети 3-6 лет) и у больных энтеровирусным менингитом	192
5.4 Сравнительная характеристика циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в образцах сточных вод и у больных энтеровирусным менингитом	201

5.5	Совершенствование методов серотипирования энтеровирусов с использованием клеточных культур животного происхождения	207
5.6	Совершенствование методов внутривидового генотипирования энтеровирусов	210
6	РОЛЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ РАССЛЕДОВАНИИ ОЧАГОВ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ НЕПОЛИОМИЕЛИТНЫМИ ЭНТЕРОВИРУСАМИ.....	215
6.1	Общие положения о цели информационной системы	216
6.2	Участники информационной системы и уровни обработки данных	218
6.3	Данные, собираемые в информационную систему на различных уровнях обработки	220
6.4	Алгоритм анализа эпидемиологических данных введенных в информационную систему	224
6.5	Аналитические математические модели информационной системы.....	230
6.6	Результаты эпидемиологической диагностики с использованием информационной системы.....	232
ГЛАВА 7	СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ И СПОСОБОВ ПРОФИЛАКТИКИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ.....	234
7.1	Новые растительные субстанции в качестве кандидатов для разработки кожных антисептиков	234
7.2	Расширение арсенала способов дезинфекции для обеззараживания воздуховодов системы вентиляции	241
7.3	Влияние некоторых органических и химических соединений на патогенный потенциал возбудителей энтеровирусной (неполио) инфекции	249
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	257
	ВЫВОДЫ	283
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	286
	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	287
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	288

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	291
Приложение № 1 Схема алгоритма сбора и обработки данных для эпидемиологической диагностики энтеровирусных инфекций	325
Приложение № 2 Кандидаты растений, произрастающие на территории Российской Федерации, с компонентами, обладающими антимикробной активностью	332

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Активизация эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции (ЭВНИ) в последние годы отмечается во всех регионах мира, включая Россию и не зависит от их социально-экономического статуса [25, 66]. Значимость ЭВНИ определяется высокой интенсивностью эпидемического процесса, повсеместным распространением, высокой долей вспышечной заболеваемости, контагиозностью, значительной летальностью, разнообразием клинических форм и проявлений [12, 26, 267], многообразием и высокой изменчивостью возбудителей [17, 50, 180, 198, 211], их широкой диссеминацией среди населения в силу высокой устойчивости неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) во внешней среде [139], отсутствием средств специфической профилактики [45, 72].

В Российской Федерации эпидемиологический надзор за ЭВНИ реализуется в рамках Национального плана по поддержанию свободного от полиомиелита статуса в постсертификационный период, регламентируется основным нормативным документом: СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» и методическими указаниями в части эпидемиологического надзора (МУ 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции») и лабораторной диагностики (МУК 4.2.2357-08 «Организация и проведение вирусологических исследований материалов из объектов окружающей среды на полиовирусы, другие (неполио) энтеровирусы»). В ходе реализации ведомственных целевых программ Роспотребнадзора «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» в 2009-2011 гг. и 2015-2017 гг. совершенствовалось санитарное законодательство в части методического обеспечения и профилактики энтеровирусной инфекции в РФ. В настоящее время разработана и осуществляется программа по совершенствованию эпидемиологического надзора за ЭВНИ на 2018-2022 гг.

Вместе с тем, динамика заболеваемости ЭВНИ в последние годы по-прежнему сохраняет тенденцию к росту. По мнению одних авторов, это связано со сменой доминирующих штаммов НПЭВ с высокой степенью вирулентности [246], по мнению других - с улучшением регистрации заболеваемости и лабораторной диагностики ЭВНИ в ряде субъектов РФ, выявлением не только случаев энтеровирусного менингита, но и «малых» клинических форм [18, 48].

До настоящего времени открытыми остаются вопросы, как связан рост заболеваемости ЭВНИ с интенсивностью циркуляции НПЭВ среди населения, каковы соотношения циркулирующих серотипов с частотой их встречаемости в качестве этиологических агентов и значимость отдельных серотипов энтеровирусов в формировании эпидемического процесса высокой интенсивности.

Актуальной остается проблема вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга, который включает исследование клинических материалов от пациентов и проб с объектов окружающей среды с использованием традиционных вирусологических методов (клеточные культуры) и методов молекулярной биологии (ПЦР и секвенирование) [59, 89]. Однако, широкое использование ПЦР стало возможным относительно недавно, а методы секвенирования для проведения внутривидового типирования доступны лишь в высокотехнологичных лабораторных центрах Роспотребнадзора. Это затрудняет сопоставление возбудителей и определение маркеров вирулентности, как следствие, использование результатов лабораторных исследований для эпидемиологических целей.

Решение основной задачи прогнозирования развития эпидемического процесса по заболеваемости ЭВНИ также остается затруднительным [68, 112]. Не разработан алгоритм анализа и интерпретации результатов мониторинга НПЭВ, что предполагает поиск новых подходов к повышению его информативности. Обнаружение энтеровирусов в пробах сточных вод не во всех случаях свидетельствует об интенсивности их циркуляции среди населения [57].

Распределение заболеваемости ЭВНИ в разрезе субъектов РФ по-прежнему продолжает оставаться неравномерным. К основным причинам относят проблемы диагностики на территориях. Во многих регионах регистрируют преимущественно случаи при вспышечной заболеваемости. Не разработан единый подход к обследованию эпидемических очагов, включая внутрибольничные случаи заражения. Такая ситуация обусловлена, прежде всего, отсутствием адаптированных для использования доступных программных продуктов, обеспечивающих простоту и оперативность сбора и обработки статистических данных, что диктует необходимость совершенствования информационных технологий. Перечисленные выше проблемы затрудняют эпидемиологическую диагностику и своевременность принятия управленческих решений, направленных на локализацию очагов ЭВНИ [11].

В связи с отсутствием средств специфической профилактики ЭВНИ, включая экстренную профилактику, исключительно важным компонентом противоэпидемической работы является комплекс санитарно-гигиенических и дезинфекционных мероприятий в очагах, целью которых является воздействие на механизм, факторы и пути передачи инфекции [2, 72]. В этой связи, разработка новых препаратов для сезонной и экстренной химиопрофилактики, средств и способов дезинфекции и антисептики является приоритетной задачей [4]. Так, за последние 15 лет в области исследований пикорнавирусов, к которым относят энтеровирусы, достигнут существенный прогресс в понимании структурно-функциональных аспектов взаимодействия вирусов с различными клеточными рецепторами в процессе связывания, интернализации и внутриклеточного трафика [206]. Поиск и создание новых высокоактивных субстанций с целью разработки на их основе высокоэффективных веществ, а также научное сопровождение их производства, невозможно осуществить без изучения основного механизма репликации вируса в клетку - рецепторной специфичности.

В последние годы растет количество дезинфицирующих препаратов, появляются новые композиционные составы и формы. Ставятся и решаются задачи по разработке новых эффективных и безопасных антисептиков,

способов применения и оценки результатов их влияния на состояние здоровья и заболеваемость людей. К числу рекомендованных и внедренных в практику технологий относят использование антисептиков, обладающих наряду с антимикробными также моющими и сберегающими кожные покровы человека свойствами. Такое совмещение достигаемых эффектов позволит сократить трудозатраты и материальные средства, сохранить здоровье персонала. Одним из перспективных направлений в этой области исследований считают разработку кожных антисептиков на основе растительного сырья [33]. В качестве кандидатов рассматривают растения, произрастающие на территории РФ, что актуально в рамках программы импортозамещения. Разработка средств, обладающих выраженным антисептическим эффектом с пролонгированным действием в отношении энтеровирусов, имеет высокую актуальность. Эти средства должны быть полностью безопасны, помогут не только снизить заболеваемость ЭВНИ, но и сохранить для наших потомков окружающую среду.

Перечисленные проблемы определяют необходимость детального изучения закономерностей развития эпидемического процесса ЭВНИ; оптимизации вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга с целью раннего выявления циркуляции эпидемически значимых штаммов возбудителей с оценкой их биологических характеристик, влияющих на патогенный потенциал; разработки новых подходов к оценке эпидемиологической ситуации ЭВНИ с прогнозированием их этиологии; создания инновационных средств противовирусной защиты; совершенствования нормативной базы по реализации противоэпидемических и профилактических мероприятий, направленных на снижение заболеваемости ЭВНИ и профилактику.

Степень разработанности темы исследования

Глобальной проблеме изучения ЭВНИ, включая заболеваемость на отдельных территориях РФ, уделяется большое внимание. Ей посвящены работы ведущих отечественных и зарубежных ученых в этом направлении (Брико Н.И., Иванова О.Е., Ежлова Е.Б., Сергеев А.Г., Новикова Н.А., Голицына Л.Н.,

Троценко О.Е., и др.). Мировой и Российский опыт изучения проблемы ЭВНИ, значительный объем накопленных знаний о заболеваемости, клинических формах и циркуляции НПЭВ, ставит вопросы научно-обоснованного и рационального использования этих знаний для эффективного воздействия на эпидемический процесс.

Как свидетельствуют результаты многолетних исследований, проведенных в нашей стране и за рубежом, разработка новых подходов к изучению заболеваемости ЭВНИ приобретает для РФ большое значение, как для страны, свободной от полиомиелита, поскольку с 2002 года по решению ВОЗ надзор за циркуляцией НПЭВ рассматривается в рамках составляющей надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами, где вопросам прогнозирования этиологии ЭВНИ на основе эффективных и экономически обоснованных методов лабораторной диагностики, уделяется особое внимание (Зверев В.В., Парфенова О.В., Новикова Н.А., Малышев В.В., Сергевнин В.И., Сапега Е.Ю., Bailly J.L., Mirand A., Henquell C., Archimbaud C., Chambon M., Charbonne F., Traore O., Gaunt E., Harvala H., Osterback R., Sreenu V.B., Thomson E., Waris M., Simmonds P., и др.). Отчетливой тенденцией в развитии эпидемиологического надзора в последние десятилетия можно считать все более широкое привлечение методов молекулярной биологии, генетики и современных информационных технологий, как составной части вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга [171, 242].

В настоящее время в РФ созданы референс-центры по мониторингу за энтеровирусной инфекцией (ФБУН «Нижегородский Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора и ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН»), а также региональные научно-методические центры Роспотребнадзора на базе ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной», ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» и ФБУН

Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций. Система эпидемиологического надзора за ЭВНИ в РФ, в целом соответствует уровню стран-лидеров в этом направлении.

Значительный многолетний опыт, накопленный в области изучения ЭВНИ в РФ, является методической базой для научных исследований по разработке новых подходов к изучению эпидемического процесса этой актуальной инфекции на современном этапе. Исследования включают глубокий эпидемиологический анализ заболеваемости на ряде неблагополучных территорий РФ и оценку значимости отдельных представителей НПЭВ в развитии групповой заболеваемости, вопросы прогнозирования эпидемической ситуации, оптимизации направлений эпидемиологического надзора и профилактики ЭВНИ.

Цель исследования

На основе углубленного изучения закономерностей развития эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в современных условиях определить новые подходы к эпидемиологическому надзору, эпидемиологической диагностике, прогнозированию эпидемической ситуации и совершенствованию средств и способов неспецифической профилактики.

Задачи исследования

1. Изучить основные тенденции эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации за 14 лет (2006-2019 гг.) с использованием математических моделей.

2. Провести сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем интенсивности (на примере Уральского Федерального округа и Западной Сибири).

3. Оценить эпидемиологическую значимость отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов в формировании заболеваемости при

различных клинических формах инфекции и в отдельных возрастных группах населения.

4. Определить эффективность различных подходов для прогнозирования этиологии энтеровирусного менингита на примере вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга биологических материалов от человека и объектов внешней среды.

5. В целях совершенствования эпидемиологической диагностики энтеровирусной (неполио) инфекции разработать программный продукт для эпидемиологического расследования очагов.

6. Обосновать возможность использования инновационных средств и способов неспецифической профилактики при осуществлении эпидемиологического контроля за энтеровирусной (неполио) инфекцией.

Научная новизна исследования

В результате проведенного исследования:

1. Впервые определены основные закономерности развития эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции различной интенсивности в условиях активизации эпидемических очагов с неединичными случаями заболевания и активного вовлечения в эпидемический процесс детского населения. Установлено, что одним из критериев эпидемического неблагополучия на территориях с низким уровнем регистрируемой заболеваемости является высокая доля тяжелых форм инфекции в клинической структуре (энтеровирусный менингит) с тенденцией к росту.

2. Впервые установлены основные признаки активизации эпидемического процесса при энтеровирусной (неполио) инфекции, в их числе 2-х летняя цикличность при энтеровирусном менингите, более раннее начало эпидемического сезона у детей относительно взрослого населения, смена циркуляции доминирующих серотипов в течение 1-2 эпидемических сезонов.

3. Установлено, что этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции при видовом разнообразии возбудителей имеет связь с клиническими

проявлениями и возрастом заболевших и определяется серотипами, формирующими очаги с числом случаев 3 и более.

4. Доказано, что использование результатов вирусологического мониторинга сточных вод в системе эпидемиологического надзора за энтеровирусной (неполио) инфекцией для целей прогнозирования этиологической структуры энтеровирусного менингита мало информативно. Определена индикаторная группа населения, «здоровые» дети от 3-х до 6-ти лет, позволяющая прогнозировать этиологию заболевания при энтеровирусных менингитах, обусловленных возбудителями ЕСНО и Coxsackievirus B.

5. Выявлен высокий ингибирующий эффект ряда химических веществ (роданин и нистатин), а также субстанций из растений (3 % водно-глицериновые экстракты пихты и ели) на возбудители энтеровирусной инфекции.

6. Разработаны новые методы индикации и идентификации неполиомиелитных энтеровирусов, усовершенствован способ дезинфекции систем вентиляции, что в комплексе с традиционными методами повысит качество лабораторной диагностики, эффективность противоэпидемических и профилактических мероприятий при работе в очагах энтеровирусной (неполио) инфекции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные новые знания о качественных проявлениях эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции при различных уровнях его интенсивности, вносят существенный вклад в теоретические основы эпидемиологии инфекционных болезней.

Выявленные экологические закономерности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов с разным патогенным потенциалом, обогатят новыми данными теорию саморегуляции паразитарных систем В.Д. Белякова (1987 г.). Результаты исследований свидетельствуют о том, что эволюция эпидемических штаммов НПЭВ, циркулирующих в очагах с множественными случаями и определяющих высокий уровень заболеваемости на территориях, прежде всего, идет

в направлении оптимизации генома возбудителя и проявляется в смене его генетических вариантов, включая тонкую настройку механизмов реализации патогенного потенциала.

Существенный вклад в изучение биологии вирусов вносят исследования о структурно-функциональной организации энтеровирусов на основе изучения их рецепторной специфичности. Полученные результаты способствуют расширению теоретических основ для разработки таргетированных лекарственных и профилактических средств различного назначения, обеспечивают понимание молекулярных механизмов развития энтеровирусной (неполио) инфекции на клеточном и субклеточном уровне, дают научное обоснование рациональному использованию этих знаний для эффективного воздействия на эпидемический процесс.

Данные о серотиповой специфичности неполиомиелитных энтеровирусов при отдельных клинических формах и в разных возрастных группах населения вносят существенный вклад в развитие инфектологии.

Разработка инновационных продуктов на основе химических соединений и растительных субстанций, а также усовершенствование способа дезинфекции систем вентиляции расширит арсенал дезинфицирующих и антисептических препаратов и обеспечит повышение эффективности противоэпидемических мероприятий, прежде всего, при ликвидации вспышек энтеровирусной (неполио) инфекции в эпидемических очагах с неединичными случаями заболеваний.

В рамках выполненной диссертационной работы разработаны ряд новых методов и способов диагностики и профилактики, подкрепленных патентами на изобретение: новый способ секвенирования энтеровирусов по участку генома VP1 и VP2 с использованием "полувложенной" ПЦР (патент на изобретение «Способ генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома» RUS 2701145 от 10.07.2019), новый способ аэрозольной дезинфекции воздуховодов для профилактики энтеровирусных инфекций (патент на изобретение «Аэрозольный способ дезинфекции систем вентиляции» RUS 2731265 от 17.12.2019), схема алгоритма сбора и обработки данных для

эпидемиологической диагностики энтеровирусных инфекций (заявление о выдаче патента на промышленный образец, регистрационный номер № 2020502830, дата поступления в «Федеральный институт промышленной собственности» (ФИПС) 18.06.2020).

В международную базу данных генетической информации NCBI GenBank депонированы 43 нуклеотидные последовательности неполиомиелитных энтеровирусов (МК639188 – МК639230) из коллекций штаммов, выделенных от больных ЭВНИ в 2017-2018 гг. (МК639230, МК639229, МК639228, МК639227, МК639226, МК639225, МК639224, МК639223, МК639222, МК639221, МК639220, МК639219, МК639218, МК639217, МК639216, МК639215, МК639214, МК639213, МК639212, МК639211, МК639210, МК639209, МК639208, МК639207, МК639206, МК639205, МК639204, МК639203, МК639202, МК639201, МК639200, МК639199, МК639198, МК639197, МК639196, МК639195, МК639194, МК639193, МК639192, МК639191, МК639190, МК639189, МК639188).

Методология и методы исследования

Генеральная идея представленного научного исследования включает последовательное применение методов научного познания для решения определенных рамками диссертационного исследования задач с учетом результатов обзора современных научных литературных источников отечественных и зарубежных авторов в области эпидемиологии, инфектологии, вирусологии, молекулярной биологии, экологии, медицинской статистики и математического моделирования. Методологической основой его явились теоретические положения, признанные в отечественной эпидемиологии – учение о механизме передачи инфекционных болезней (Л.В. Громашевский, 1960), социально-экологическая концепция эпидемического процесса (Б.Л. Черкасский, 1986), теория саморегуляции паразитарных систем (В.Д. Беляков с соавт., 1987). В работе применены общенаучные подходы и специальные методы исследования

классической эпидемиологии (описательные и аналитические) и математического моделирования, а также лабораторные (вирусологические, серологические, молекулярно-биологические) и статистические методы. Полученные результаты проанализированы, систематизированы и изложены в основных главах диссертационного исследования, заключении, выводах и практических рекомендациях.

Положения, выносимые на защиту:

1. Заболеваемость энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации характеризуется выраженной тенденцией к росту с активным вовлечением в эпидемический процесс детского населения. На территориях с высоким уровнем интенсивности эпидемического процесса, такие проявления как периодичность и сезонность имеют свои особенности и определяются заболеваемостью в очагах с неединичными случаями. На территориях со спорадическим уровнем заболеваемости преобладают тяжелые клинические формы.

2. Этиология различных клинических форм энтеровирусной (неполио) инфекции независимо от степени интенсивности эпидемического процесса, определяется серотипами, циркулирующими в очагах с числом случаев 3 и более. Ведущими серотипами на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири являются представители Coxsackievirus A6 и Echovirus E30. Coxsackievirus A6 преимущественно поражает детей до 3-х лет с развитием герпангины, стоматита и экзантемы, Echovirus E30 чаще вызывает заболевания у детей старше 3-х лет с развитием серозного менингита.

3. Эффективным методом прогнозирования этиологии энтеровирусного менингита, обусловленного серотипами ECHO и Coxsackievirus B, является молекулярно-генетическое исследование спектра неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих в популяции «здоровых» носителей, детей в возрасте от 3-х до 6-ти лет, результаты исследования сточных вод для этих целей имеют низкую информативность.

4. Перспективными мероприятиями по совершенствованию эпидемиологической диагностики и эпидемиологического контроля в очагах энтеровирусной (неполио) инфекции являются: внедрение в методику эпидемиологического обследования очагов энтеровирусных (неполио) инфекций современного информационного программного продукта, использование в составе антимикробных средств перспективных химических и органических соединений и растительных субстанций, а также новый способ аэрозольной дезинфекции систем вентиляции.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Все научные положения, представленные в диссертации, обоснованы, аргументированы и достоверны. Степень достоверности полученных результатов определена объемом наблюдений и репрезентативностью выборок (911 форм статистического наблюдения, 9605 лабораторных исследований, 74 серии научных экспериментов), использованных для решения поставленных задач и методов исследования (эпидемиологические, математическое моделирование, вирусологические, молекулярно-генетические, санитарно-микробиологические, экспериментальные, филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ), применением адекватной статистической обработки первичного материала. Основные положения диссертации и полученные результаты были доложены и обсуждены на научных мероприятиях: Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2015-2019); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной (Н. Новгород, 2016); Научно-практической конференции «Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе» (Новосибирск, 2016); Ежегодном XI Съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 2017); Ежегодных конгрессах с международным участием «ИСМП-2016», «ИСМП-2019» (Москва, 2016, 2019); V Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018); Межрегиональной научно-практической конференции с международным

участием «Вирусные инфекции и общество: проблемные вопросы диагностики, лечения и профилактики» (Екатеринбург, 2018).

По теме диссертации опубликовано 35 научных работ, в том числе 14 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертаций и 2 патента РФ на изобретение.

Диссертационная работа заслушана и апробирована на расширенном заседании отделов эпидемиологии вирусных инфекций и индикации и диагностики вирусных инфекций ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора (протокол №8 от 5.11.2019 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Материалы диссертации использованы для разработки Информационных бюллетеней «Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции (ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. ак. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора), 2017, 2018, 2019 гг.; «Энтеровирусная инфекция в Уральском Федеральном округе и Западной Сибири» (ФБУН Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Роспотребнадзора), 2017, 2018, 2019 гг.; «Организация дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в Уральском и Сибирском Федеральном округах (ФБУН Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Роспотребнадзора), 2017, 2018, 2019 гг.; Информационно-методического письма «Практика использования аэрозольных распылителей для объемной дезинфекции в медицинских организациях» (ФБУН Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Роспотребнадзора), 2019 г.; Федеральных методических рекомендаций МР 3.1.0140-18 «Неспецифическая профилактика гриппа и других острых респираторных заболеваний» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ), 2018 г.

Результаты исследований внедрены в научную и педагогическую работу кафедры эпидемиологии и управления службой Роспотребнадзора ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (акт внедрения от 31.07.2020 № 07/1543), кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России (акт внедрения от 03.07.2020 № 05/5554), кафедры общей и военной эпидемиологии ФГБВУ ВО ВМедА им. С.М. Кирова (акт внедрения от 10.07.2020 № 4/10/598) и используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами по специальностям «Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия», ординаторами и курсантами факультетов последипломного образования. Основные положения диссертационного исследования применяются в практической работе Урало-Сибирского научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора (11 территорий Уральского Федерального округа и Западной Сибири с населением более 23 млн. чел.).

Личное участие автора в получении результатов

Автором лично выполнено планирование и организованы эпидемиологические, вирусологические и молекулярно-генетические исследования, проведен эпидемиологический анализ отдельных случаев и вспышек энтеровирусных инфекций, осуществлены обработка и анализ статистических данных, разработаны методические документы. Доля участия автора в диссертационном исследовании составила 75 %.

Автор выражает искреннюю благодарность научным консультантам: д.м.н., профессору, академику РАН Акимкину В.Г. и д.м.н., профессору Фельдблюм И.В. (за участие в планировании работы, помощь в разработке концепции и дизайна исследований), д.м.н., профессору Сергееву А.Г. (за помощь в разработке алгоритма интерпретации молекулярно-генетического мониторинга и совместные публикации по материалам исследований), к.м.н. Резайкину А.В. (за организацию сбора информации из очагов энтеровирусных инфекций на базе Урало-

Сибирского научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций, проведение экспериментальной части исследований по секвенированию генома неполиомиелитных энтеровирусов и оценке их рецепторной специфичности, публикацию совместных статей), с.н.с. Питерскому М.В. (за помощь в разработке программного продукта и обработке статистических данных), коллективу сотрудников ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, на базе которого проведено диссертационное исследование и оформлена оригинальная рукопись.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 343 листах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, раздела о перспективах дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка использованной литературы (296 источников, в том числе 72 отечественных и 224 зарубежных) и двух приложений. Диссертация иллюстрирована 59 рисунками и 52 таблицами.

ГЛАВА 1 ОБЩЕМИРОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика энтеровирусной (неполио) инфекции

Энтеровирусную инфекцию (ЭВИ) неполиомиелитной этиологии (ЭВНИ) до настоящего времени относят к числу неуправляемых инфекционных болезней человека [48]. ЭВНИ представляют серьезную проблему для систем здравоохранения всех стран мира, что обусловлено наметившейся тенденцией к активизации эпидемического процесса с развитием тяжелых клинических форм (менингитов, энцефалитов, гепатитов, кардитов и пр.) [22]. Заболеваемость ЭВНИ с определенной периодичностью регистрируют на всех континентах и в государствах с различным уровнем экономического уклада, состояния экологии и гигиены [65, 66].

За последние годы накоплен обширный материал о роли энтеровирусов в инфекционной патологии человека [17, 21]. Несмотря на то, что с момента открытия К. Landsteiner и Е. Popper в 1908 году первого возбудителя ЭВИ – вируса полиомиелита (вид С рода Enterovirus) прошло более 100 лет, некоторые аспекты данного заболевания до сих пор остаются не до конца изученными. Важной особенностью ЭВНИ является длительное вирусоносительство. Вирус выделяется с фекалиями человека до 6-ти недель, что создает опасность развития инфекции для неиммунных лиц и людей с иммунодефицитными состояниями, а также увеличивает риск возникновения вспышечной заболеваемости в организованных коллективах и внутрисемейных очагах [83]. Высокий уровень чувствительности к вспышкам ЭВНИ имеют страны и территории, переживающие военные конфликты в силу постоянного состояния нестабильности, как при

перемещении большого числа людей, так из-за нарушенной работы коммунальных служб и систем здравоохранения [192]. Неполиомиелитные энтеровирусы (НПЭВ) могут циркулировать в течение всего года, однако пик заболеваемости чаще приходится на лето [236]. По данным Центра контроля и профилактики заболеваний (США) за энтеровирусами, а также согласно демографическим и климатическим данным в период с 1983 по 2013 гг., в США была установлена пространственная структура сезонности энтеровирусов, которая напоминает таковую у исторического довакцинального полиомиелита (1931-1954). Используя модель со смешанными эффектами, ученые пришли к выводу, что климат, а не демография является вероятной причиной сезонности случаев ЭВНИ. Большинство стран Азиатско-Тихоокеанского региона (АТР) являются эндемичными в отношении ЭВНИ. При этом в последнее время отмечены значимая роль России в международной интеграции государств Азиатско-Тихоокеанского региона (АТР) и рост привлекательности этих стран для российских туристов. Следовательно, в условиях активизации миграционных процессов весьма вероятны трансграничное распространение энтеровирусов и их занос на территорию РФ [66].

Биологический фактор эпидемического процесса. Энтеровирусы представляют собой мелкие безоболочечные РНК-содержащие вирусы, входящие в род *Enterovirus*, семейство *Picornaviridae* (от *pico* – малый и *rna* – содержащий РНК), порядок *Picornavirales* [231]. В соответствии с решением Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses) их подразделяют на 13 видов: *Enterovirus A-J* и *Rhinovirus A-C*. У человека выделяют виды *Enterovirus A-D* и *Rhinovirus A-C*. На сегодняшний день известно более 120 типов энтеровирусов видов *A-D* [276].

Диаметр энтеровирусов составляет около 30 нм, они имеют белковую оболочку (капсид), которая окружает нить РНК. Вирусы кислотоустойчивы и сохраняют инвазионную способность при уровне pH 3.0 и ниже, что обеспечивает им выживание в желудочно-кишечном тракте человека и во внешней среде. Энтеровирусы устойчивы к эфиру, 70 % спирту, 5 % лизолу и замораживанию.

Прогревание до температуры 50°C и выше, высушивание, ультрафиолетовое облучение, обработка 0,3 % раствором формальдегида, хлорсодержащими препаратами (0,3–0,5 г хлора на 1 л) приводит к их быстрой инактивации. Капсид энтеровируса состоит из 60 белковых структурных субъединиц, каждая из которых содержит четыре полипептидные цепи: VP1 — VP4. Белки VP1, VP2 и VP3 расположены на поверхности вириона, белок VP4 лежит внутри вирусной частицы и тесно контактирует с РНК [81, 240]. Геном энтеровируса представляет собой молекулу РНК позитивной полярности размером 7400–7500 нуклеотидных остатков (н.о.), содержащую единственную открытую рамку считывания, фланкированную двумя нетранслируемыми регионами (НТР): 5'-НТР (742 н.о.) и 3'-НТР (65 н.о.). К 5'-концу вирусной РНК ковалентно присоединен низкомолекулярный белок VPg (20–25 аминокислотных остатков), выполняющий роль белок-нуклеотидной затравки [77]. Отрезок 5'-НТР содержит участки стабильной вторичной структуры «cloverleaf» (лист клевера) и внутренний сайт связывания рибосом (Internal Ribosomal Entry Site – IRES), они необходимы для инициации трансляции вирусной РНК. Показано, что точечные мутации, происходящие в данном регионе генома, влияют на вирулентность и температурную чувствительность вируса [95, 158, 200, 205, 243, 269]. Именно этот регион генома широко используется в диагностике ЭВНИ методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР), поскольку содержит высококонсервативные участки, удобные для подбора родоспецифичных праймеров [49, 167, 267]. Отрезок 3'-НТР играет важную роль в инициации синтеза минус-нити вирусной РНК и содержит высококонсервативные вторичные и третичные структуры. Показано, что нуклеотидные последовательности 3'-НТР генома всех энтеровирусов консервативны внутри вида (70–99 % идентичности), но имеют видовую специфичность (< 62 % идентичности), что делает этот регион генома отличной мишенью для подбора видоспецифичных праймеров [222]. 3'-конец вирусной РНК заканчивается полиаденилатным хвостом размером 75 н.о. РНК энтеровируса, содержит единственную общую рамку считывания длиной около 6500 н.о., кодирующую полипротеин (2100 а.о.), который расщепляется

вирусными протеазами 2А, 3С и 3СD в процессе трансляции, поэтому полноразмерный белок обычно не образуется. Открытые рамки считывания (ОРС) делят на три области: Р1, Р2, Р3. Область Р1 кодирует капсидные белки VP1, VP2, VP3, VP4. Установлено, что полипептид VP1 содержит аминокислотные последовательности, определяющие серотип вируса и является главным рецепторным локусом вириона. В связи с этим, область генома энтеровируса, кодирующую VP1, используют в методах «молекулярного серотипирования» или генотипирования. Области Р2 и Р3 кодируют неструктурные белки и находятся в центральной части генома и на 3'-конце транслируемой области [81].

Классификация. Первоначально энтеровирусы были классифицированы на основе их антигенных свойств и патогенности для человека и лабораторных животных на полиовирусы (ПВ), коксакивирусы А (КА), коксакивирусы В (КВ) и эховирусы (ЕСНО). Однако, вскоре стало понятно, что такая классификация несовершенна. Некоторые штаммы отклонялись от основных характеристик прототипных штаммов, обладая промежуточными свойствами. Для исключения путаницы, начиная с энтеровируса EV-D68, было предложено присваивать новым серотипам последующие порядковые номера, а не относить их к какой-либо группе [97, 151, 219, 220]. С развитием вирусологических методов и методов молекулярной биологии в 90-е годы XX века была предложена новая классификация энтеровирусов, базирующаяся на их биологических свойствах [100, 237]. Было установлено, что некоторые вирусы, отнесенные к энтеровирусам, являются представителями других родов и семейств. Вирус ЕСНО 10 является реовирусом; ЕСНО 28 – риновирусом; ЕСНО 34 – вариантом вируса Коксаки А 24. Вирус гепатита А, классифицировавшийся некоторое время как EV 72, выделен в самостоятельный род Hepatovirus. Вирус Коксаки 23 был реклассифицирован как ЕСНО 9, вирус ЕСНО типов 1 и 8 признаны разными штаммами одного серотипа [151]. На основе сравнения нуклеотидных и аминокислотных последовательностей капсидных белков VP1 и VP2 известные энтеровирусы были разделены на четыре генетических кластера: кластер А (Coxsackievirus A16-подобные вирусы: вирусы Coxsackievirus А 2-8, 10, 12, 14, 16

и E 71), кластер В (Coxsackievirus В -подобные вирусы: вирусы Coxsackievirus А 9, Coxsackievirus В 1-6, все ECHO), кластер С (полиовирус (ПВ)-подобные вирусы: ПВ 1-3, вирусы Coxsackievirus А 1, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24) и кластер D (EV-D68 и 70) [231]. При анализе нуклеотидных последовательностей 5'-НТР генома энтеровирусы были разделены на 2 геногруппы. Геногруппа I включает вирусы вида А и В, геногруппа II – вирусы вида С и D. Однако, попарное выравнивание и филогенетический анализ последовательностей капсидного белка VP2 внутри групп, не показали абсолютной корреляции с серотипом вируса (вирусы, принадлежащие к одному серотипу, часто кластеризовались отдельно) [224]. В то же время сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей VP1 известных серотипов энтеровирусов показало полную корреляцию последовательностей капсидного белка с серотипом вируса, при этом разные штаммы одного и того же серотипа всегда монофилетичны и имеют выраженные отличия от штаммов гетерологичных серотипов [220].

Основываясь на знаниях того, что VP1 является главным иммунодоминантным капсидным белком и содержит важные серотип-специфические сайты нейтрализации, Oberste с соавт. в 1999 году предложили для идентификации энтеровирусных изолятов метод «молекулярного серотипирования» [220]. Метод базируется на ОТ-ПЦР амплификации участка гена VP1 и последующем сравнении полученной последовательности с доступными в GenBank последовательностями гена VP1 всех серотипов энтеровирусов. Несомненно, этот метод с успехом может заменить классический метод типирования энтеровирусов на основе реакции нейтрализации. Молекулярное типирование серологически нетипируемых штаммов энтеровирусов привело к открытию большого числа новых энтеровирусных типов. С 2001 года было их выявлено 29 (E 73-91, 92-102) и количество продолжает расти [221].

Таким образом, согласно современной классификации, основанной на геномных характеристиках вирусов (Международный комитет по таксономии вирусов, 2003 г.), НПЭВ человека представлены 4 видами (А, В, С, D) [76].

К энтеровирусам в настоящее время относят 3 серотипа полиовируса (ПВ) (1-3), 6 серотипов вирусов Coxsackievirus В (1-6), 21 серотип вирусов Coxsackievirus А (1-14, 16, 17, 19-22, 24), 28 серотипов ЕСНО (1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33) и 43 серотипа Е (68-71, 73-91, 93-102, 104-107, 109, 111, 113, 114, 116). Вирус Coxsackievirus А15 был реклассифицирован как штамм серотипа вируса Coxsackievirus А11, а вирус Coxsackievirus А18 признан штаммом серотипа вируса Coxsackievirus А13. Вирусы ЕСНО 22 и 23, относившиеся ранее к энтеровирусу, на основании структурно-функциональных особенностей генома выделены в самостоятельный род Parechovirus и названы парэховирус 1 и 2, соответственно [231, 293].

Патогенез. Передача энтеровирусов от человека к человеку происходит, как при прямом контакте с биологическими жидкостями, содержащими вирус (слюной, фекалиями, аэрозолем, образующимся при разговоре, кашле и чихании), так и при непрямом контакте с контаминированными вирусом поверхностями и предметами. Энтеровирусы, будучи вирусами с однонитчатой РНК, активируют противовирусный иммунный ответ хозяина через рецепторы, подобные гену, индуцируемому ретиноевой кислотой (RIG-1) и толл-подобные рецепторы. В свою очередь, энтеровирусы выработали изощрённую стратегию избегания противовирусного ответа хозяина [172]. Для изучения репликации вируса Coxsackievirus В3 (CVB3) в кишечнике мышей при их пероральном заражении выяснили, что она зависит от пола. Вирус активно реплицировался в кишечнике мышей-самцов, но не самок. Было установлено, что ответ интерферона- β и половых гормонов способен изменить и вирусную репликацию, и летальность. Более того, полученные данные свидетельствовали о том, что пол и иммунный ответ хозяина играют жизненно важную роль в репликации CVB3 в кишечнике хозяина, а Коксакивирусную инфекцию следует изучать в привязке к полу пациента [245].

Характеристика эпидемического процесса ЭВНИ. Резервуар и источник ЭВНИ – человек, больной манифестной или инаппарантной формой, либо носитель. Период заразительности при ЭВНИ может составить недели, и даже месяцы. Наиболее интенсивное выделение возбудителя происходит в первые дни болезни. Вирусоносительство у здоровых лиц составляет от 17 % до 46 %. Чаще оно выявляется у детей младшего возраста. Заражение реализуется за счёт аэрозольного и фекально-орального механизма передачи, при этом благодаря высокой устойчивости возбудителя во внешней среде, для ЭВНИ характерна множественность путей передачи: воздушно-капельный, воздушно-пылевой, контактно-бытовой, водный и пищевой [56]. К факторам передачи ЭВНИ относят преимущественно овощи, контаминированные в результате использования необезвреженных сточных вод в качестве удобрений. Вирус может передаваться через грязные руки, игрушки и другие объекты внешней среды [198]. Доказано, что в 1г фекалий больного человека может содержаться до 10^7 – 10^8 частиц энтеровирусов, которые с хозяйственно-бытовыми сточными водами попадают в поверхностные водоемы и в силу высокой устойчивости к воздействию физических и химических факторов длительно сохраняются в воде. Водный путь чаще реализуется при употреблении воды как из источников централизованного, так и децентрализованного водоснабжения, а также при купании в открытых водоёмах [5, 55]. Вместе с тем, чрезвычайные ситуации, связанные с паводками и подтоплениями не оказывают существенного влияния на эпидемиологическую ситуацию по ЭВНИ [54].

Возможна вертикальная (трансплацентарная) передача энтеровируса от больной матери плоду. Естественная восприимчивость людей к ЭВНИ высока, о чем свидетельствует преимущественная заболеваемость детей. Перенесенное заболевание чаще оставляет типоспецифический иммунитет, хотя не исключена и возможность развития перекрестного иммунитета к иным типам вируса. Заболевание протекает в виде спорадических случаев, локальных вспышек (чаще – в детских коллективах) или в виде крупных эпидемий, поражающих ряд стран. Серозные менингиты энтеровирусной этиологии отличаются высокой

контагиозностью и очаговостью. Характерна массовость заболевания, при этом 70–80 % заболевших составляют дети в возрасте от 5 до 9 лет [11].

Клинические формы. Энтеровирусы относят к числу «непредсказуемых» возбудителей заболеваний человека. Вирус одного и того же серотипа способен вызывать совершенно разные клинические синдромы от тяжелых паралитических заболеваний с высокой летальностью до легких лихорадочных состояний, что определяет полиморфизм клинических проявлений ЭВНИ [244, 257, 292]. Выделяют типичные (герпангина, эпидемическая миалгия, асептический серозный менингит, экзантема) и атипичные формы ЭВНИ – инаппарантная, малая болезнь (летний грипп), катаральная (респираторная), энцефалитическая, энцефаломиокардит новорожденных, полиомиелитоподобная (спинальная), эпидемический геморрагический конъюнктивит, увеит, нефрит, панкреатит, микст-инфекции. Около 85 % случаев ЭВНИ протекают бессимптомно, около 12–14 % диагностируют как легкие формы и только 1–3 % имеют тяжелое течение [11, 76]. В качестве примеров таких тяжелых форм можно выделить два случая.

В районе Западной части Тихого океана, объявленной свободной от полиомиелита территорией с 2000 г., был зарегистрирован случай тяжелого острого вялого паралича, вызванного Echovirus 19 [162]. Сообщение о необычной семейной вспышке Коксакивирусной инфекции в Швейцарии, поразившей 5 членов одной семьи. У большинства из них были признаки менингита. У троих выявлен вирус в ликворе, в глотке и фекалиях. Геном вируса секвенирован из образцов от двух пациентов. Нуклеотидные последовательности обоих штаммов оказались идентичны. Ещё через 2 месяца выявлена циркуляция этого же штамма вируса на западе Швейцарии на расстоянии 250 км от первичного очага [94].

Описанные находки свидетельствуют о возникновении нового энтеровируса с высокой вирулентностью, контагиозностью и скоростью распространения в результате его генетической рекомбинации.

Помимо классических вариантов клинических форм ЭВНИ существует гипотеза, что энтеровирусы играют значимую роль в разрушении бета-клеток, это приводит к началу клинического сахарного диабета I типа (T1D). Энтеровирусы

в крови рассматривают, как вероятный биомаркер T1D [248]. В Тунисе были тестированы 95 пациентов с T1D (41 ребенок и 54 взрослых) и 141 жителей контрольной группы (57 детей и 84 взрослых) на предмет присутствия энтеровирусов методом высоко чувствительной гнёздной ОТ-ПЦР. Результаты подтвердили гипотезу о том, что энтеровирусы являются этиологическим фактором риска сахарного диабета I типа [91].

С целью выявления ЭВНИ у детей с сахарным диабетом I типа (T1D), а также для оценки роли обработки питьевой и сточной воды в развитии заболевания проведено исследование 382 образцов сыворотки крови детей с сахарным диабетом (T1D), 100 образцов проб детей, не страдавших диабетом и 48 проб питьевой и сточной воды. Все образцы подвергали молекулярному скринингу методом гнёздной ОТ-ПЦР. Установлена высокая распространённость генома энтеровирусов среди детей с диабетом - 26,2 % (100 из 382). В контрольной группе не получено ни одного положительного результата. Распространённость генома энтеровируса в питьевой и обработанной сточной воде составила 25 % и 33 %. Распространённость инфекционных частиц энтеровируса в питьевой и обработанной сточной воде составила 8 % и 25 %. Характеристика ампликонов энтеровируса в ОТ-ПЦР с последующим секвенированием этих изолятов показало высокую (97 %) гомологию с Coxsackievirus B4 у 60 % изолятов. Роль питьевой воды или обработанных сточных вод в качестве этиологического агента T1D оказалась вероятна [126].

Описан первый предполагаемый случай энтеровирусного менингоэнцефалита новорожденного, осложнённого несакхарным диабетом. Выявленный патоген был отнесен к серотипу Coxsackievirus B1 [156].

Проведённое на Тайване исследование установило связь между ЭВНИ и диагнозом «ослабление речевой и языковой функции» [150].

Описан случай острого геморрагического отёка у семимесячного мальчика с быстрым распространением пурпуры, из-за чего были назначены цефотаксим и амикацин. В образце СМЖ методом ПЦР обнаружен Coxsackievirus B5. Исход

заболевания был благоприятным после прекращения лечения антибиотиками [119].

Для изучения роли хронической энтеровирусной инфекции в развитии острого инсульта (ОИ), образцы крови 72 пациентов с ОИ (исследуемая группа) и 35 пациентов без заболеваний сосудов (контрольная группа) тестировали ОТ-ПЦР на наличие энтеровирусной РНК. Использовали вирусологическую панель и ИФА-тест для выявления антител IgG и IgM. Энтеровирусные геномы выявляли со значимой частотой в сыворотке пациентов с инсультом ($23,6 \pm 5,9$ %) относительно контрольной группы ($2,9 \pm 2,8$ %). Вирусы идентифицировали как Coxsackievirus B (серотипы 2,3 и 4) и ECHO (6, 9, 27 и 29. IgM к энтеровирусам не были выявлены ни в одной из представленных групп, IgG обнаружены у 17 пациентов исследуемой группы ($23,6 \pm 5,9$ %) и у 2 пациентов контрольной ($5,7 \pm 3,9$ %), что указывает на персистенцию энтеровирусов и приводит к выводу, что энтеровирусная инфекция является триггерным фактором острого инсульта [78]. Статья авторов Mantri S. и Shah B.V. (2016) сообщает о случае глубокой афазии, апраксии и мозжечковых симптомах у молодой женщины с иммунодефицитом, которые развились в течение нескольких месяцев. Из-за подозрения на токсоплазмоз пациентке провели биопсию мозга. Несмотря на надлежащее лечение, ее состояние продолжало ухудшаться, пациентка умерла. Аутопсия и ПЦР-тест показали диффузную инфильтрацию вирусом Coxsackievirus B3 в мягкой оболочке и паренхиме мозга [188].

Сообщается о случае острой энцефалопатии (ОЭ) у младенца, ассоциируемой с ВПГ-6 и тремя пикорнавирусами, в том числе CV-A6, EV-D68 и парэховирусом (HPeV). Предположительно, EV-D68 передан ребёнку от матери вертикально, CV-A6 и HPeV – нозокомиально в детском учреждении, ВПГ6 - реактивировался в организме пациента. Осталось неясным, какой из патогенов сыграл определяющую роль в развитии данного заболевания, однако очевидно, что полиинфекция вызвала цитокиновую бурю в организме, что и привело к патогенезу ОЭ [210].

Исследование 102 пациентов с инфекционными болезнями сердца - группа «случай» и 87 жертв внезапной неожиданной смерти (ВНС) - группа «контроль» и соответственно 100 пациентов с заболеваниями коронарной артерии и 54 жертвы ВНС в результате ДТП и бытовых травм на CV-B методом ПЦР установили, что CV-B участвует в инфекционных заболеваниях сердца и играет значимую роль в ВНС [134]. Описан редкий случай коинфекции EV-71 и полиовирус вакцинного происхождения 2-го типа (ПВВП-2) у пятилетнего мальчика, патоген которого идентифицирован при помощи ПЦР и секвенирования, по клиническим симптомам и картине компьютерной томографии (КТ). Ma S., Du Z., Feng M. et al. (2015 г.) определили принадлежность штамма EV-71 к подтипу С4; штамм ПВВП-2 был генетически близко родственен референсному штамму Сэбин. Сообщение даст лучшее представление о клинической роли связи между клиническими признаками и инфекционными свойствами патогенов [185]. Энтеровирусы CV-A и CV-B обнаруживали у 68-75,4 % женщин с осложненным течением беременности в околоплодных водах и плаценте. Такое синдромальное разнообразие клинической картины при ЭВНИ диктует необходимость качественной диагностики с целью эффективного лечения [22].

Диагностика. На трудность клинической диагностики ЭВНИ указывают результаты анализа амбулаторных карт приемного инфекционного отделения одного из медицинских учреждений РФ, где выявлен высокий уровень 79,6 % (n = 51) расхождения диагноза амбулаторно-поликлинической службы и предварительного диагноза инфекционного стационара [28]. Выявленные ошибки являлись следствием врачебных дефектов на догоспитальном этапе, приводящим к нераспознаванию заболевания и, как следствие, к неверной тактике терапии и профилактики, что предопределяет важность этиологической диагностики ЭВНИ с использованием лабораторных методов.

Регламентированным ВОЗ методом диагностики ЭВНИ является реакция нейтрализации, основанная на подавлении (нейтрализации) инфекционности исследуемого агента поликлональными сыворотками известной специфичности, получаемыми от гипериммунизированных животных. С помощью таких

сывороток были классифицированы 66 энтеровирусов и выявлены антигенные варианты у ряда прототипных штаммов. Функциональный диапазон энтеровирусных поликлональных сывороток позволяет надежно дифференцировать полиовирусы от других энтеровирусов, определять возбудителей полиморфных, субклинических и атипичных форм энтеровирусных заболеваний, выявлять связи между типами энтеровирусов и клиническими синдромами, устанавливать спектр циркулирующих и доминирующих штаммов НПЭВ в целях прогнозирования эпидемического процесса. В связи с этим реакция нейтрализации, реализуемая на стандартном оборудовании и материалах, стала наиболее распространенным методом идентификации энтеровирусов, широко используемым практическими вирусологическими лабораториями.

В РФ первичная диагностика энтеровирусов у больных и в объектах внешней среды проводится на базе лабораторий медицинских учреждений и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах РФ, преимущественно методом ПЦР. При этом реакция носит качественный характер, поскольку определяется мультиплексным набором на группу энтеровирусов без расшифровки их видов и серотипов.

С целью экспресс-диагностики ЭВНИ выявляют вирусные антигены. Исследуемый материал непосредственно прогревают при 38 С° при постоянном покачивании в течение 35-40 мин. После этого пробу центрифугируют при 1500 об/мин и далее при 3000 об/мин в течение 15 мин. Далее ставят реакцию связывания комплемента (РСК) со специфическими сыворотками, результат учитывают по цветовому показателю лизиса эритроцитов в зависимости от уровня освободившейся из них каталазы. За рубежом широко используют методы мультилокусного, нанопорового и полногеномного секвенирования. Описан интегрированный подход к детекции энтеровирусов в образцах человека, основанный на предварительном обогащении материала в культуре клеток до поиска вирусного генома и вирусных антигенов [136].

В настоящее время в группу стандартных методов надзора за полиовирусами в России широко входит секвенирование вирусного протеина VP1

капсидной области по Сэнгеру. Поскольку есть необходимость в расшифровке полной геномной последовательности вирусов, оптимизированы протоколы секвенирования генома для изолятов полиовируса и карт FTA (фирмы 'Flinders Technology Associates'), используя секвенирование нового поколения (NGS) в целях более широкого охвата последовательностей, повышения эффективности и производительности. Обработка ДНК-азой полиовирусной РНК с последующей амплификацией случайно выбранных образцов в ОТ-ПЦР, а также использование набора Nextera XT DNA дают гораздо лучший результат в сравнении с остальными реагентами [204].

Высокотехнологичные методы молекулярной генетики позволяют не только правильно диагностировать патоген, расшифровать механизм развития эпидемического процесса ЭВНИ, но и помогают открыть новые виды и подвиды НПЭВ, установить и изучить их генетическую изменчивость [109, 255, 271–273].

Продолжаются исследования по разработке новых энтеровирусных олигонуклеотидных зондов, изучается их влияние на детекцию возбудителя с целью оптимизации новой одномолекулярной методики гибридизации *in situ* для детекции энтеровирусов в тканях. Разработаны и проверены четыре олигонуклеотидных зонда, нацеленных на РНК энтеровирусов - два из них для выявления широкого спектра энтеровирусов и два - для направленной на серотипы детекции Коксакивируса В1 (CVB1) для коммерческого теста гибридизации *in situ* QuantiGeneViewRNA. Специфичность зондов проверена на панели культур клеток, инфицированных различными серотипами энтеровируса и на образцах инфицированной CVB мышшиной поджелудочной железы [171].

Перспективной является методика амплификации генома энтеровирусов с последующим генотипированием и применением миниатюризованного секвенатора MiniON. Важным является то, что секвенатор нового поколения позволит обеспечить точную идентификацию изолята EV-A71 на уровне штамма с различением штаммов, имеющих сходство на 99,7 %. Кроме того, получена точная консенсусная последовательность для изолята РНК EV-A71, имеющая сходство на 99,3 % - 99,6 %. Таким образом, нанопоровое секвенирование

позволит быстро расшифровать полный геном и идентифицировать изолят РНК EV-A71 на уровне штамма. Показана возможность секвенирования с применением MiniON для непосредственной детекции энтеровирусов в образцах воды, что может найти его широкое применение в контроле качества воды и экологическом надзоре [242].

С совершенствованием классических методов вирусологической диагностики [108], а так же с развитием молекулярно-биологических методов: ПЦР и секвенирование [19, 203, 275], которые в последние годы продолжают активно совершенствоваться и входить в практику работы научных организаций и территориальных органов Роспотребнадзора, широкое использование имеет филогенетический анализ. Он позволяет выявить (исключить) связи между изучаемыми изолятами и явлениями, улучшить качество клинической и эпидемиологической диагностики [233, 275]

Выявление, учет. Каждый случай энтеровирусного заболевания (или подозрения на него) подлежит регистрации и учету по месту его выявления в лечебно-профилактических, детских, подростковых, оздоровительных и других учреждениях независимо от ведомственной принадлежности и форм собственности, а также в медицинских учреждениях, занимающихся частной практикой (форма №060/у). Медицинская организация, уточнившая, изменившая или отменившая диагноз, представляет новое извещение. Сведения из экстренных извещений вносят в журнал учета инфекционных заболеваний в учреждениях, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор. На каждого больного с подозрением на заболевание оформляется карта эпидемиологического расследования случая инфекционного заболевания в установленной форме. При возникновении групповых заболеваний (10 и более случаев – в МО, 15 и более – в образовательных учреждениях, 50 и более – среди населения) внеочередное донесение в установленном порядке представляется в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Управление Роспотребнадзора по субъекту РФ [11].

Лечение. Несмотря на отсутствие специфического лечения ЭВНИ, сообщают об антивирусном препарате плеконарил, оказавшем эффективный эффект у взрослых и детей. Авторы сообщают о 42-летнем мужчине с ранее диагностированным переменным неклассифицируемым иммунодефицитом, у которого был тяжёлый хронический менингоэнцефалит, вызванный ЕСНО-6, успешно вылеченный плеконарилом [241].

Известно, что энтеровирусы поражают преимущественно детей, в том числе детей раннего возраста и новорожденных. В ходе сероэпидемиологических исследований в 2000 году в Сингапуре было установлено, что материнские антитела к EV-A71 исчезают из крови новорожденного уже к концу первого месяца жизни и отсутствуют у здоровых детей до 23 месяца жизни [225], что говорит об отсутствии здорового носительства энтеровирусов в возрасте до 2 лет. Именно на этот период жизни детей приходится большинство летальных исходов [104]. Завершившееся испытание плеконарила в группе новорожденных детей дает обнадеживающие результаты и свидетельствует о возможности снижения смертности от неонатальных ЭВНИ [179].

Профилактика. Одним из методов экстренной профилактики ЭВНИ считают применение аттенуированной оральной полиомиелитной вакцины (ОПВ). Принцип действия ОПВ основан на быстром (2–3 дня) заселении кишечника у детей в возрасте от 1 года до 14 лет вакцинным полиовирусом, вследствие чего вытесняются из циркуляции другие штаммы [45]. Так, живая полиомиелитная вакцина была успешно использована для купирования вспышки инфекции E 71 в Болгарии и вспышек серозного менингита и энтеровирусного увеита в России [12, 37]. Вакцинацию проводили на пике подъема заболеваемости. Применение этой вакцины по эпидемическим показаниям проводилось однократно, независимо от ранее проведенных профилактических прививок против полиомиелита (по распоряжению Территориального управления Роспотребнадзора).

С профилактической целью в очаге инфекции можно использовать человеческий лейкоцитарный интерферон (закапывать или распылять в носовые

ходы по 5 капель 3-4 раза в день в течение 10-15 дней), рекомбинантные интерфероны и индукторы интерферона (виферон, анаферон детский), пробиотики (бифиформ, линекс, аципол), адаптированные смеси, содержащие пробиотики детям раннего возраста (линейка НАН). Дезинфекционные мероприятия в очагах проводятся по общим принципам, разработанным для инфекционных заболеваний вирусной этиологии с фекально-оральным механизмом передачи [1, 23, 44].

В Китае в период с 2008 по 2013 гг. после 9 млн. случаев заболеваний детского населения с синдромом «рука-нога-рот» - hand-foot-and-mouth disease (HFMD), преимущественно вызванными EV A-71 энтеровирусом (EV-A71) и Coxsackievirus A16 (CV-A16) были проведены три клинических испытания фазы 3 инактивированных моновалентных вакцин против EV-A71 китайского производства, которые оказались высокоэффективны для защиты от HFMD, вызванного EV-A71, но не обеспечивали защиты от HFMD, вызванного CV-A16. В целях лучшего информационного обеспечения вакцинационной политики использовали математические модели для оценки эффекта от будущей вакцинации против HFMD, вызванного EV-A71 и потенциального риска замены серотипа на CV-A16. Ученые пришли к выводу, что способность математических моделей к охвату наблюдаемых эпидемических циклов говорит за то, что коллективный иммунитет направляет динамику эпидемии, вызванной множественными серотипами энтеровируса. Результаты показали, что EV-A71 и CV-A16 дают временный иммунизирующий эффект друг против друга. Для прекращения продолжающейся передачи EV-A71 необходим высокий охват вакцинацией против данного серотипа, но вероятно, замена ЭВНИ на серотип CV-A16 после вакцинации против EV-A71 будет преходящей и маломасштабной в сравнении с соответствующим снижением нагрузки от ассоциируемого с EV-A71 HFMD [262].

31 декабря 2015 г. Управление по пищевым продуктам и медицинским препаратам Китая одобрило инактивированную цельновирионную вакцину против энтеровируса-71 (EV-A71) для профилактики тяжёлого синдрома HFMD.

Это одна из немногих вакцин для профилактики детских инфекционных заболеваний, недавно разработанных в развивающихся странах. Однако существуют проблемы, связанные с ее применением, в том числе эффективность против различных пандемических штаммов EV-A71 в других странах, международные требования к производству вакцин и контроль качества, стандартизация и унификация методик мониторинга и т.д. Для профилактики HFMD следует учитывать вопросы доступности вакцины против EV-A71 в других странах. Очевидно, что при коммерческой доступности вакцины против EV-A71 до эффективной профилактики тяжелого HFMD с момента появления вакцины на рынке может пройти значительное время [189]. Вместе с тем, многообразие возбудителей ЭВНИ может свести на нет все усилия ученых в области создания моновакцин.

1.2 Эпидемиологический надзор и контроль за энтеровирусной (неполио) инфекцией

Эпидемиологический надзор. Исходя из неблагоприятных перспектив глобально нестабильной ситуации по ЭВНИ и социально-экономической значимости ряда заболеваний энтеровирусной этиологии, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в 2005 г. внедрила программу ликвидации полиомиелита и систему эпидемиологического надзора за НПЭВ. Наряду с этим, энтеровирусную инфекцию, вызываемую вирусами EV-A71 и EV-D68, а также некоторые другие опасные заболевания вирусной природы, ВОЗ предложила в качестве кандидатов для внесения в «Список приоритетных заболеваний». В связи с этим систематический глобальный надзор за циркуляцией энтеровирусов имеет важное мировое значение для слежения за формированием и распространением эпидемических вариантов энтеровирусов, прогнозирования

развития эпидемической ситуации, своевременного проведения профилактических мероприятий и разработки средств вакцинопрофилактики.

В этих условиях регулярный эпидемиологический надзор за данной группой инфекций, основанный на данных государственного статистического учета заболеваемости и оперативно полученных результатах молекулярно-генетического мониторинга за циркуляцией энтеровирусных патогенов в человеческой популяции, а также значимых внешнесредовых объектах (прежде всего, в воде и пищевых продуктах), является необходимой профилактической мерой по ограничению роста заболеваемости ЭВНИ. Следовательно, для предотвращения глобального распространения ЭВНИ, необходим постоянный мониторинг [112].

В настоящее время мониторинг за ЭВНИ организован во многих странах мира. Во Вьетнаме он основан на мониторинге заболеваемости энтеровирусной экзантемой полости рта и конечностей, лабораторной диагностике энтеровирусной инфекции и идентификации штаммов энтеровирусов, преимущественно от больных с тяжелым течением заболевания. Так, у больных на территории Вьетнама в 2001–2016 гг. были выявлены НПЭВ 34 типов. Наибольшую долю среди возбудителей составили вирусы EV-A71, CV-A6, CV-A10, CV-A16. Самая высокая заболеваемость энтеровирусной инфекцией и наибольшее количество летальных случаев были связаны с ростом активности вируса EV-A71. В разные временные периоды на территории страны была зафиксирована циркуляция EV-A71 генотипов C1, C4, C5 и B5. В последние годы доминирующим возбудителем энтеровирусной инфекции так же, как и в большинстве других стран, был вирус CV-A6 нового пандемического генотипа. Результаты изучения филогенетических взаимоотношений штаммов вирусов EV-A71 и CV-A6 в этом регионе позволили установить факты множественных заносов эпидемических вариантов этих вирусов с сопредельных территорий. Последующее широкое распространение таких вариантов вирусов внутри страны обусловило развитие эпидемии ЭВНИ в 2011–2012 гг. и сохранение высокого

уровня заболеваемости вирусной экзантемой полости рта и конечностей [16, 218, 266].

В Японии службы инфекционного контроля прослеживали HFMD и проводили мониторинг пациентов и патогенов в период с 1997 по 2013 гг. в связи с развитием в Восточной и Юго-Восточной Азии крупных вспышек энцефалита, вызванного инфекцией EV-A71 и выраженного в тяжёлых и летальных формах. Хотя EV-A71 и CV-A16 являются основными патогенами HFMD, в Японии с 2011 г. регистрировали в качестве нетипичного патогена HFMD энтеровирус CV-A6 [133].

В континентальном Китае за пять лет вирусологического надзора (2008-2015 гг.) по данным крупнейшего популяционного исследования выявили 10714237 выживших и 3046 умерших от HFMD. Смертельные случаи пришлось на юг (Гуаньси) и юго-запад Китая (Гуйчжоу). Из всех летальных случаев 93,7 % составили дети до 5 лет. Риск инфекции был выше для мальчиков, при этом 43,73 %, 22,4 % и 34,22 % случаев СРНР были вызваны ЭВ71, Коксаки А16 и прочими энтеровирусами [271, 287]. Для получения исчерпывающего представления о наиболее распространённых энтеровирусах человека проведено серологическое исследование нейтрализующих антител (нАт) против энтеровируса А71 (EV-A71), Коксакивируса А16 (CVA-16), Коксакивируса А6 (CVA-6), Коксакивируса А10 (CVA-10), Коксакивируса В3 (CVB-3), Коксакивируса В5 (CVB-5), Эховируса-25 (ECHO25) и Эховируса-30 (ECHO30) среди здорового населения в г. Сямэнь в 2016 г. Всего в исследование методом случайной выборки включили 515 лиц в возрасте от 5 месяцев до 83 лет. Общая серопревалентность этих восьми энтеровирусов находилась в пределах от 14,4 % до 42,7 %. В большинстве случаев с возрастом наблюдалось её повышение. Присутствие нАт против различных энтеровирусов распространено у лиц в возрасте от 7 лет из-за чередующихся или сочетанных инфекций различными серотипами возбудителя, в то время как большинство детей, прежде всего в возрасте до 1 года, были негативны [295]. В 2014 г. были обследованы 927 пациентов с серозным менингитом в Шаньдуне (Китай) . Образцы СМЖ от 209 пациентов, позитивных на энтеровирус,

протестированы методом культивирования и полугнездной ОТ-ПЦР. Среди позитивных пациентов преобладали дети до 15 лет. 209 последовательностей относились к 11 типам, среди которых преобладали Коксакивирус В5, ЕСНО-6 и ЕСНО -30. Анализ участка VP1 указал на одновременную циркуляцию многих линий [107].

В Малави были исследованы 749 образцов фекалий на наличие энтеровирусов методом ПЦР в режиме реального времени с участием детей в возрасте от 6 месяцев до 5 лет. Большая доля образцов (89,9 %) была позитивна. Положительные образцы на основе частичных последовательностей VP1 секвенированы, из них 12,9 % принадлежали к EV-A, 48,6 % - к EV-B и 38,5 % - к EV-C. Наиболее часто выделяемым серотипом оказался CVA-13 и EV-C99. Штаммы CVA-13 показали существенное генетическое разнообразие, и вероятно, представляли новый кластер 'F'. Большинство штаммов EV-C99 группировалось как кластер В. Таким образом, исследование показало высокую циркуляцию энтеровирусов среди малавийских детей при распространённости в 89,9 % [92].

В семи странах Западной Африки от детей с острым вялым параличом (ОВП) проведен ретроспективный анализ 3195 образцов фекалий, забранных в рамках эпидемиологического надзора за полиомиелитом с 2013 по 2014 гг. Секвенирован по участку генома VP1 и типирован 201 изолят. Обнаружены 39 различных типов НПЭВ, соответствующих видам EV-A (6,9 %), EV-B (90,5 %), EV-C (2 %) и EV-D (0,5 %) Больше всего выделили представителей ЕСНО - в 138 случаях (68,6 %), Коксакивирусы В - в 35 случаях (17,4 %). Идентифицированные вирусы в других странах выявлялись в ограниченном количестве (EVA76, EVA119, EVB75, EVB77, EVB97, EVC99, CVA20, CVA21 и EVD94). Исследование установило большое разнообразие циркуляции НПЭВ, полученных при надзоре за ОВП, что подчеркивало необходимость долгосрочных стратегий прослеживания циркуляции НПЭВ в Западной Африке [130].

Для выяснения роли НПЭВ при ОВП в Нигерии проведено исследование по идентификации НПЭВ в фекалиях детей с установленным диагнозом. Проанализированы 96 изолятов (95 неидентифицированных и 1 ранее

подтверждённый как штамм полиовируса-3 Сэбин), выращенных в культуре клеток RD из образцов фекалий детей младше 15 лет в 2014 г. Все изоляты подвергли экстракции РНК, синтезу кДНК и тестировали тремя различными ПЦР-методиками (панэнтеровирусной с 5'-UTR и двумя другими с VP1). В 92,71 % (89/96) выявлен энтеровирус, 69 из 83 отсеквенированных ампликонов области VP1 идентифицированы как 27 различных типов энтеровируса. Чаще всего выявляли CVB-3 (10 изолятов) EV-B75 (5 изолятов). Среди детей с ОВП в Нигерии циркулировали штаммы 27 типов НПЭВ, о штаммах CVB-2, CVB-34, E17, EV-B80, EV-B73, EV-B97, EV-B93, EV-C99 и EV-A120 сообщено впервые [128].

После сообщений о тяжелых неврологических заболеваниях в США, вызванных EV-D68 и увеличения числа случаев энтеровирусного менингита, в центральных графствах Великобритании специалисты служб инфекционного контроля провели ретроспективное описательное исследование регионального уровня. Полученные образцы спинномозговой жидкости (СМЖ) тестировали методом ПЦР на ВПГ-1/2, ВВЗ, энтеровирусы и парэховирусы. Позитивные в ПЦР образцы СМЖ далее направляли на серотипирование. Выстроено филогенетическое древо 30 последовательностей по участку генома энтеровируса VP1. Число позитивных на энтеровирус образцов СМЖ составило: 21 (2008), 7 (2011), 53 (2012), 58 (2013) и 31 (2014). Всего 163 из 170 серотипированных энтеровирусов принадлежало к виду В (эховирус 5, 6, 7, 9, 11, 13, 16, 17, 18, 21, 25, 30, Коксаки В1, В2, В2, В3, В4, В5, А9); только 7 - к виду А (Коксаки А2, А6, А16 и энтеровирус-71). Эховирус оказался доминантным серотипом, идентифицирован в 43 (25,3 %) образцах со значительной долей среди взрослых лиц (37,3 %) относительно детей (12,3 %). Филогенетический анализ показал, что последовательности 30 представленных вирусов ЕСНО по участку генома VP1 из центральных графств Великобритании кластерно были близки к вирусам из Европы и Китая [147].

Нидерландская сеть по типированию вирусов VIRO-TypeNed сообщила о росте числа случаев инфекции, обусловленной Эховирусом-6 (Е-6) с

неврологическими симптомами в период с июня по август 2016 г., в том числе 10 из 15 неврологических случаев выявлены в одной провинции; идентифицированные вирусы были генетически родственными. Цель сообщения заключалась в оповещении медицинских работников о циркуляции на территории вируса E-6 ассоциированного с неврологическими симптомами [88].

Несмотря на схожесть генетических и морфологических признаков полиовирусов и НПЭВ, вопрос об объединении мониторинга за ними в одну систему надзора ранее не рассматривался. Например, в Европейском регионе, в Дании, Финляндии, Исландии и Швеции нет отдельного вида надзора за случаями острых вялых параличей (ОВП). В Швеции в системе надзора за ЭВНИ обязательной регистрации подлежат только случаи серозного менингита. Всего 3 страны Балтийской зоны осуществляют надзор за окружающей средой. В 7 странах Западной зоны такой надзор на постоянной основе не проводится. В целях улучшения готовности к реагированию на вновь появляющиеся энтеровирусы, вызывающие тяжёлые заболевания была проведена оценка способности лабораторий Европы к идентификации и характеристике неполиомиелитных энтеровирусов EV D-68 и EV-A71. В 30 странах Европейского Союза - Европейской экономической территории (ЕС/ЕЭТ) были направлены онлайн-анкеты по надзору за НПЭВ и лабораторной детекции. 29 стран откликнулись, 26 - провели лабораторный надзор, 24 - включили неврологические инфекции в систему эпиднадзора. 11 - установили систему специфичного надзора за EV-D68 через сигнальную систему мониторинга за гриппом (n=7), типирование позитивных на энтеровирусы образцов (n=10), и/или систему надзора за острыми вялыми параличами (n=5). Из 26 стран, занимавшихся характеристикой/типированием НПЭВ, только 10 смогли дать дальнейшую характеристику культуропозитивным изолятам, остальные типировали позитивные изоляты методом ПЦР, 6 стран типировали более 300 образцов методом секвенирования, в то время как 11 стран охарактеризовали менее 50 позитивных на энтеровирусы образцов. Деятельность по надзору за энтеровирусами в странах ЕС/ЕЭТ была различной и не всегда направлена на

пациентов с неврологическими инфекциями. Авторы исследования пришли к выводу, что в целях повышения эффективности детекции энтеровирусов необходимо ввести унифицированные методики типирования [87].

В целом, с 2014 по 2016 гг. в Национальную систему эпиднадзора за энтеровирусами (НСЭЭ) было заявлено 2967 случаев инфекции, вызванной НПЭВ и ПЭВ. В этот период наибольшее число случаев (2051) пришлось на 2014 г., в котором произошла крупная вспышка D68 (EV-D68), что составило 68 % [73].

Мировые глобальные эпидемии ЭВНИ, описанные выше, представляют потенциальную опасность санитарно-эпидемиологическому благополучию населения РФ. В целях эффективного реагирования на вспышки ЭВНИ и предотвращения трансграничного распространения возбудителей необходима динамическая оценка мирового состояния заболеваемости ЭВНИ и циркуляции возбудителей, представляющих опасность для населения с точки зрения возможности их завоза на территорию нашей страны, а так же глубокий анализ организации системы инфекционного контроля за ЭВНИ в этих странах. Многие территории РФ являются эндемичными по ЭВНИ.

В РФ, как в стране, свободной от полиомиелита, с 2002 года надзор за циркуляцией энтеровирусов рассматривается в рамках составляющей надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами. Рост заболеваемости ЭВНИ в отдельных субъектах РФ, наличие сезонных подъемов, регистрация эпидемических очагов с групповыми случаями, высокий риск завоза высоковирулентных штаммов определяют самостоятельную актуальность эпидемиологического надзора за ЭВНИ. Он представляет собой непрерывное наблюдение за эпидемическим процессом с целью оценки ситуации, своевременного принятия управленческих решений, разработки и реализации санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, обеспечивающих снижение рисков распространения ЭВНИ, предупреждения тяжелых форм и формирования очагов с множественными случаями заболеваний. Неотъемлемыми составляющими эффективного надзора является точная идентификация возбудителя с использованием информативных молекулярно-

генетических исследований [41, 53]. Учитывая актуальность ЭВНИ, в 2008 году Роспотребнадзор утвердил первую ведомственную целевую Программу «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2009-2011 гг.», в рамках которой был выполнен значительный объем организационных, методических и практических мероприятий, научно-исследовательских работ. Приняты ряд нормативных и методических документов, в том числе СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции». Значительно укреплена материально-техническая база лабораторий, осуществляющих исследования биологического материала от людей и проб из объектов окружающей среды. Разработаны и внедрены в практику диагностические наборы реагентов для ПЦР. С 2015 года реализована программа «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2015-2017 гг.» В настоящее время изучение ЭВНИ проводится в соответствии с программой «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2018-2022 гг.», а также приказом Роспотребнадзора №1116 от 01.12.2017 г. «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации» во взаимодействии с референс-центрами по мониторингу за энтеровирусными инфекциями (ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора и ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН»), а также региональными научно-методическими центрами Роспотребнадзора на базе ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной», ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» и ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций», где большое место отводится качественной этиологической диагностике и активному внедрению инновационных лабораторных технологий.

В г. Екатеринбурге и Свердловской области систематическое наблюдение за заболеваемостью энтеровирусным менингитом (ЭВМ) ведется с 1970 года [7, 12]. Установлено волнообразное течение эпидемического процесса с периодами подъема и спада, по результатам многолетнего наблюдения, заболеваемость в несколько раз превышает средние показатели по Российской Федерации [59].

Значимость отдельных генотипов в этиологии. Из всего многообразия энтеровирусов крупные вспышки мирового значения вызывали преимущественно 2 вида энтеровирусов – Enterovirus A71 (EV-A71) и Coxsackivirus A6 (CV-A6).

В настоящее время энтеровирусы типа 71 (EV 71) рассматривают как один из самых значимых патогенов. Он характеризуется высокой нейротропностью и вызывает крупные вспышки с летальными исходами. По основным физико-химическим и биологическим характеристикам EV 71 практически не отличается от остальных энтеровирусов [176, 177]. Впервые EV-A71 был выделен в США 1969 году в Калифорнии из фекалий пациента с энцефалитом [116]. Описаны 28 случаев инфекции, вызванной EV-A71 в Нью-Йорке в период с 1972 по 1977 год [197].

За пределами США EV-A71 впервые зарегистрирован при эпидемии серозного менингита в Мельбурне (Австралия) в период 1972-1973 гг. [161]. Связь EV-A71 с HFMD была установлена в 1973 во время небольших вспышек в Швеции [90]. Первая крупная эпидемическая вспышка, связанная с EV-A71, зарегистрирована в 1975 году в Болгарии, в которую было вовлечено более 705 детей с ящуроподобным заболеванием, у 149 из них развился паралич, 44 ребёнка умерло. Основными клиническими проявлениями были лихорадка и неврологические нарушения с симптомами полиомиелита [111]. Через 2 года в 1978 году в Венгрии заболело 1550 детей, инфицированных EV-A71, из которых 47 умерло. Основными клиническими проявлениями явились серозные менингиты (826 случаев) и энцефалиты (724 случая), при этом, в отличие от вспышки в Болгарии, у части пациентов возникала экзантема по типу HFMD [208]. Наиболее широкое распространение EV-A71 получил в Азиатско-Тихоокеанском регионе. Первые небольшие вспышки энцефалитов и серозных

менингитов, вызванных EV-A71, произошли в Японии и в Австралии. Летом 1972-1973 года в Мельбурне с энтеровирусным менингитом было госпитализировано более 200 человек, у 39 был выявлен EV-A71 [161]. До широкого распространения молекулярно-генетических методов типирования при расшифровке этиологии вспышек использовался серологический метод нейтрализации вируса специфическими антителами. Специфичность данного метода серьёзно снижала кросс-нейтрализация, например между EV-71 BrCr и CV- A16/G10, CV-A3 Olson и CV-A8 Donovan, CV-A5 Swartz и CV-A12. Тем не менее, основные генотипы и субгенотипы вирусов определялись свойствами белков VP1 и VP4. EV-A71 был разделён на 3 генотипа А, В, С, вместе с этим генотипы В и С были разделены на 5 субгенотипов: В1-В5 и С1-С5. Однако некоторыми исследователями на основании филогенетического анализа полногеномных нуклеотидных последовательностей EV-A71, субгенотип С4 был отнесен к генотипу D, а субгенотип В4 включал в себя субгенотип В5 [103]. Вспышки, связанные с вирусом из подгруппы В1 EV-A71 были зарегистрированы на Тайване в 1980 и 1986 гг. [143], в Японии в 1990 и 1993 году [201]. Подгруппы В3 и В4 EV-A71 вызвали несколько крупных вспышек в Азиатско-Тихоокеанском регионе в период с 1997 по 1999 (подгруппа В3) и с 1997 по 2003 (подгруппа В4) [96, 110, 145]. В 1998 году вирус подгруппы В4 EV-A71 был связан с заболеваемостью герпангинами и HFMD на Тайване – общее число заболевших составило 405, из них умерло 78 человек [143]. В 2000 году на материковой части Малайзии (Малайя, полуостров Малакка) в Японии и Сингапуре возникли вспышки заболеваний В4 EV-A71 с тяжёлой неврологической симптоматикой и смертельными исходами [142, 165, 184, 225]. Заболеваемость HFMD, связанная с вирусом подгруппы В5 EV-A71, впервые зарегистрирована в 2003 году в Японии [201]. Исследования Норвежских учёных продемонстрировали активную циркуляцию подтипа С1 EV-A71 с бессимптомными формами инфицирования детей на протяжении нескольких лет. У бессимптомно циркулирующего штамма в нетранслируемом участке 5'UTR и в регионе 3D, кодирующем полимеразу были выявлены мутации, которые могут объяснить его уменьшенную

нейровирулентность [280]. Вирус подгруппы С4 EV-A71 впервые заявил о себе небольшими вспышками HFMD в Китае в 1998 году, в 2002 году проявился на Тайване, в 2003 в Японии и Южной Корее, в 2005 во Вьетнаме, в 2006 в Таиланде. Во всех странах в первый год данный вирус вызывал небольшие вспышки или спорадическую заболеваемость, а уже спустя 1 или 2 года представлял собой серьёзную эпидемиологическую проблему [105, 121, 149, 154, 169, 174, 213]. Только официально в Китае с 2008 по 2015 год было зарегистрировано 13,69 миллиона случаев заболевания энтеровирусной инфекцией, из которых более 251 тысячи (43,6 % всех лабораторно подтверждённых случаев) были связаны с С4 EV-A71. Эпидемия охватила более 30 провинций Китая, включая Тибет. Около 94 % заболевших составили дети до 5 лет. Смертельный исход наступил в 3322 случаях, из которых в 2308 - был обнаружен С4 EV-A71 (92,5 % всех подтверждённых случаев) [62, 175, 287]

Во Вьетнаме EV-A71 был впервые выявлен в 2003 году [213, 268]. В 2012 году заболело более 90 тысяч детей [121]. Масштабы описанных вспышек и эпидемий, вызванных EV-A71, зачастую были ограничены исключительно случаями госпитализации со среднетяжёлым и тяжёлым течением заболевания. Исследования, направленные на оценку реальной распространённости ЭВНИ продемонстрировали более широкую распространённость EV-A71 среди населения. За время 8-ми месячной вспышки на Тайване в 1998 году, вызванной EV-A71, по официальному рапорту в рамках программы дозорного сетевого наблюдения сообщалось о 130 тысячах случаях HFMD и герпангины, при этом в данной программе были задействованы только 9 % врачей Тайваня, оказывавших помощь пострадавшим во время эпидемии. По оценочным данным с клиническими проявлениями ЭВНИ обращались за медицинской помощью около 1,5 млн. человек, а учитывая, что 29 % случаев, вызванных EV-A71, протекает бессимптомно, предположительные масштабы охвата эпидемией на Тайване могли достигать до 2,1 млн. человек, или 43 % групп «риска» [144]. Кросс-секционные исследования в Сингапуре показали, что среди детей в возрасте от 2 до 5 лет ежегодно происходит рост иммунной прослойки в популяции, имеющей

антитела к EV-A71, на 12 % ежегодно, достигая к 5-летнему возрасту 50 %, что свидетельствует об активной циркуляции вируса даже в отсутствии регистрации вспышечной заболеваемости. Вместе с тем, на фоне уменьшения циркуляции EV-A71 на Тайване вследствие широкой иммунной прослойки, образовавшейся в результате крупномасштабной вспышки HFMD в 1998 году, сероэпидемиологические исследования демонстрируют отрицательную динамику уровня популяционного иммунитета [225]. Оценка бремени от осложнений и летальных исходов синдрома HFMD, клинически диагностированных и лабораторно подтверждённых случаев инфекции EV-A71 проведена Jones E, Pillay TD, Liu F. et al. (2018 г.) за период с 1 января 1966 г. по 19 октября 2015 г., проанализированы материалы 43 исследований с выборкой из 599 детей. Определен кумулятивный показатель распространённости смертельных исходов или неврологических осложнений при максимально длительном прослеживании, который составил 19,8 %, гетерогенность - 88,57 % [155]. В последние 20 лет EV-A71 стал одной из основных проблем общественного здравоохранения в Азиатско-Тихоокеанском регионе и за его пределами [176, 214, 285, 288]. При этом он приобретает высокий уровень изменчивости. Так, РНК-полимераза EV-A71 ошибается, по некоторым оценкам, на 1-2 нуклеотида за полный цикл репликации, что объясняет его быструю эволюцию. Скорость нуклеотидных замен составляет $4,2-4,6 \cdot 10^{-3}$ на сайт в год, что соответствует скорости мутации полиовируса и превышает скорость мутации вируса гриппа [163, 216, 256, 265, 290]. Еще одной из современных особенностей EV-71 являются частое поражение детей в возрасте от 3 до 7 лет, посещающих организованные коллективы [60].

Второй вид энтеровируса, имеющий высокую эпидемическую значимость - Коксакивирус А6. Активно циркулируя по всему миру с 2008 года, CV-A6 вызывает вспышки заболевания, характеризующегося экзантемными высыпаниями в области HFMD, и поражает преимущественно детей. Большинство случаев заболевания, вызванных данным вирусом, протекают легко или бессимптомно [238]. В ходе самой масштабной вспышки энтеровирусной инфекции в Китае с осени 2012 года он занял доминирующее положение

в этиологической структуре HFMD, заменив EV-A71 и CV-A16 [283]. С 2012 по 2016 изучены 9949 случаев заболеваний ЭВНИ и 1230 образцов сыворотки крови младенцев и детей в Шанхае. Установлено, что с 2013г. CV-A6 стал доминирующим серотипом [274]. В 2008 году CV-A6 был основным возбудителем, вызывавшим HFMD, во время большой вспышки энтеровирусной инфекции в Финляндии. До этой вспышки, с 2000 по 2007 вирусологического мониторинга в Финляндии, CV-A6 был выделен всего от 4 пациентов и имел связь с герпангиной [226], что свидетельствует о длительной бессимптомной циркуляции вируса и формировании большого количества иммунизированных лиц, вирусовыделителей. Именно они оказывают наиболее серьезное эволюционное давление на вирус, формируя «бутылочное горлышко», позволяющее не только преодолеть популяционный иммунитет, но и поражать больше разновидностей клеток хозяина, только теми мутировавшими штаммами, у которых изменились антигенные детерминанты оболочечного белка. Во время вспышки в Финляндии и Испании в 2008 году CV-A6 имел особенности белка VP1, позволившие ему поражать ногтевые пластины, что явилось отличительной особенностью по отношению к другим энтеровирусам, участвовавшим в формировании вспышечной заболеваемости в этих странах. К удивлению исследователей, CV-A6 выделялся не только из фекалий, но и из ногтевых пластин пациентов [113, 226].

В последние годы все большую актуальность приобретают другие энтеровирусы, в их числе Enterovirus D68 (EV-D68)[42] и Echovirus 30 (E30)[17].

Заболевание с тяжёлым респираторным синдромом, вызванное Enterovirus D68 (EV-D68) с момента своего открытия в Калифорнии в 1962 году до 2014 года по всему миру было зарегистрировано всего лишь у 699 человек [146]. Эпидемия началась с августа 2014 года, когда в США среди детей резко выросло число заболеваний, вызванных EV-D68, затем инфекция распространилась в Канаду, Европу и Азию. Всего 2014 году в 20 странах мира было зарегистрировано более 2000 случаев ЭВНИ, вызванной EV-D68. Данный вирус был также выделен у детей с острыми вялыми параличами неизвестной этиологии, распространение

которых носило очаговый характер, а неврологические поражения напоминали осложнения при заболевании полиомиелитом [178, 251]. Исследования серопревалентности в различных возрастных группах в Нидерландах свидетельствуют о том, что EV-D68 эндемично циркулировал в течение многих десятилетий и сформировал мощную иммунную прослойку. У обследованных лиц с частотой 94,3-98,3 % обнаруживались специфические антитела против EV-D68, при этом в анамнезе отсутствовали характерные клинические проявления [157]. В целях исследования генетических характеристик Энтеровируса D68 (EV D-68), циркулировавших в Италии во время вспышки в марте-октябре 2016 г, проведено ретроспективное исследование циркуляции различных типов и подтипов EV D-68. Носоглоточные мазки забирали с марта по октябрь 2016 г. у детей, поступивших в кабинет неотложной помощи с респираторными заболеваниями. Из 390 детей 22 (59,1 % мальчиков, средний возраст 47 месяцев) оказались инфицированы EV D-68, при этом большинство из них были иммунокомпетентны (72,7 %). Пневмония диагностирована у 12 (54,5 %) детей. Филогенетический анализ области показал, что все идентифицированные в данном исследовании штаммы принадлежали к кладу В3. В субкладе В3 итальянские штаммы были наиболее близкородственны штаммам, выявленным на юге Китая в 2015 г., а также штаммам, выявленным в США и Нидерландах в 2016 г. Выводы: инфекции вирусом EV D-68 являются частой причиной респираторных заболеваний в детском возрасте. Циркуляция линии EV D-68 в Италии и европейском регионе была зафиксирована в 2016 г. [232]. С августа 2014 г. в США и Канаде сообщали о росте числа случаев инфекции, обусловленных EV D-68. Нидерландские исследователи решили проверить, имеет ли место увеличение числа респираторных инфекций, вызванных вирусом в их регионе. Проанализированы 1896 респираторных образцов, 39 (2 %) из которых дали позитивный результат. Филогенетический анализ показал их близкое родство со штаммами, ныне циркулирующими в США и относящимися к известным генетическим подтипам EV D-68 [235]. Вспышка инфекции EV-D68 в США (2014г.), ассоциированная с тяжелыми респираторными и неврологическими заболеваниями, послужила сигналом для

действия служб инфекционного контроля во многих странах Европы [127]. Получено 6229 образцов с 212 выявленными случаями EV-D68 во Франции, и 14838 образцов с 39 случаев позитивности в Германии [140]. Анализ ситуации в Германии свидетельствовал о сезонности инфекций EV-D68, при этом большинство случаев регистрировали в сентябре-ноябре (36-48 недели); пики во Франции приходились на октябрь (43 неделя) и ноябрь (48 неделя). В обеих странах инфекция поражала в основном детей до 5 лет. Клинические проявления у детей в Германии выражались в астме и бронхолите, во Франции – в астме, где примерно 11 % госпитализированным детям и 14 % госпитализированным взрослым понадобилась интенсивная терапия, главным образом из-за тяжести респираторных проявлений. Данные секвенирования установили, что штаммы EV-D68 из всех трёх немецких больниц в 2013-2014 гг., принадлежат к одному кластеру с вирусами, циркулирующими по земному шару. Работа Harvala H, Jasir A, Penttinen P et al. (2017 г.) обогатила данные по эпидемиологии EV-D68, показала важность и непрерывного молекулярного мониторинга за энтеровирусами в респираторных образцах, что позволяло отслеживать тенденции и усиливающуюся тяжесть заболевания в его дебюте; установила значимость эпидемиологического надзора и контроля за ЭВНИ.

Энтеровирус E30 в последние годы является основным этиологическим агентом при эпидемических вспышках групповой заболеваемости серозными менингитами. Десятки рекомбинантных форм E30 обеспечивают непрерывные волны распространения данной инфекции по всему миру, при этом продолжают образовываться новые штаммы. В 2012 г. в двух регионах Болгарии произошла вспышка серозного менингита, в качестве этиологического агента установлен E30. Для детекции использовали выделение вируса из культуры клеток, серологический и молекулярно-генетический методы. Всего исследовано 157 пациентов, у 117 из которых подтверждено заболевание, ассоциированное с E30. Молекулярный анализ 12 изолятов E30 подтвердил аминокислотную идентичность вирусов, а также их близкое родство с греческим штаммом, вызвавшим вспышку в 2012 г. Преимущественно поражались дети от 5 до 14 лет

[202]. Цель работы немецких учёных заключалась в исследовании клинико-лабораторных характеристик взрослых с энтеровирусными инфекциями центральной нервной системы. Оценивали данные от 46 пациентов с позитивной реакцией ликвора на энтеровирусы в ПЦР за период с 2000-2017 гг. Менингит был самым распространённым клиническим проявлением (89 %), за ним следовал энцефалит (7 %) и инфекция черепного нерва (4 %). Секвенирование выявило энтеровирус у всех пациентов; большая часть последовательностей относилась к представителю ЕСНО-30 [74].

Беспрепятственная циркуляция НПЭВ под давлением иммунитета населения обеспечивает их селекцию. Несмотря на то, что 95 % нуклеотидных замен на участках VP1 и 3D у E30 были синонимичны и не приводили к изменению аминокислотной структуры белка, скорость возникновения таких замен была достаточно высока ($8,3 \cdot 10^{-3}$ замен на сайт в год) [195]. Селекция вируса E30, продолжавшаяся по данным филогенетических исследований в течение 50 лет [85] обеспечила отдельным штаммам повсеместное распространение, включая Россию [9, 17, 18].

Для ЕСНО-9, также характерна высокая аминокислотная вариабельность на отдельных участках капсида [15], однако в настоящее его значимость в этиологической структуре энтеровирусных менингитов значительно уменьшилась [18].

С января по апрель 2015 г. на Реюньоне (Франция) произошла крупная вспышка острого геморрагического конъюнктивита (ОГК), вызванного Коксакивирусом-24 и значительно повлиявшая на организацию системы здравоохранения на острове. По данным сигнальной сети семейных врачей, в этот период число консультаций по поводу конъюнктивита составило 100000. В расшифровке вспышки участвовали несколько организаций: сеть неотложных отделений больниц (сеть OSCOUR), сигнальная сеть семейных врачей, интернет-группа населения, участвовавшая в опросе по конкретным симптомам, в том числе симптому «красные глаза», мониторинг продаж глазных капель. Результаты, полученные от организаций с различными подходами,

соответствовали динамике вспышки. Пиковое число пациентов с конъюнктивитом выявлено на 10 и 11 неделе, что совпало с максимальными продажами глазных капель на острове. Штаммы, полученные во время вспышки, принадлежали к IV генотипу и были наиболее родственны штаммам от вспышек в Китае, Египте и Японии, произошедших с 2010 г. Авторы статьи подчеркивали, что продолжение надзора за этим возбудителем остаётся важным мероприятием не только на местном уровне, но в целях ограничения его завоза в Европу [190].

В РФ в литературных источниках описаны вспышки ящуроподобных заболеваний Коксаки А6 в 2012 году в Нижнем Новгороде и в 2016 году в Ленинградской области. В эпидемический процесс были вовлечены дети, посещающие детские дошкольные учреждения [14, 52]. Вирус Коксаки А1, вызвавший вспышки экзантемы полости рта и конечностей, зарегистрирован в Мурманской области среди детей, дошкольных учреждений и школ, воспитанников специализированного дома ребенка с 2009 по 2011 год. В 2010 году ящуроподобное заболевание наблюдалось среди детей в возрасте от 7 до 14 лет из оздоровительного лагеря в Новгородской области. В Ленинградской области в 2012 году случаи, обусловленные Коксаки А16 были выявлены среди детей до 6 лет в двух детских дошкольных учреждениях [8]. В 2012 году в Оренбургской области в одном из сельских детских садов зарегистрирована вспышка экзантемы полости рта и конечностей с участием Коксаки А16 [32]. В поселке Де-Кастри Ульчского района Хабаровского края в 2012 году в результате предполагаемого завоза из Еврейской автономной области был сформирован очаг групповой заболеваемости в детском дошкольном образовательном учреждении с 38 пострадавшими детьми и 1 взрослым. Из материала от больных были выделены энтеровирусы Коксаки А16 и Коксаки В4 [51, 66]. Заболеваемость энтеровирусной инфекцией в Республике Дагестан впервые за много лет на фоне повышения заболеваемости ЭВНИ в РФ, возникла в июне 2016 года. В 13 населенных пунктах Ногайского района зарегистрирована вспышка, вызванная EV 71. Исследовано 190 проб биоматериала (ликвор, носоглоточные мазки, фекалии) от 127 детей с диагнозами: серозный менингит – 13 случаев,

энтеровирусная инфекция (ЭВИ), ОРВИ – 144 случая. Получено 65 положительных результатов на присутствие РНК EV-A71 (34,2 %). Наиболее высокий процент положительных находок отмечен в пробах фекалий – 47,1 % [38].

В мировой научной литературе опубликовано достаточно большое количество работ, посвященных изменению активности циркуляции вируса, связанной с сезонностью ЭВНИ (в РФ подъем заболеваемости с пиком в июле–сентябре), что может способствовать возникновению и исчезновению из циркуляции новых вариантов энтеровирусов. Показано, что этот процесс происходит даже в пределах одного типа. Например, рекомбинантные формы E30 регулярно появлялись, получали широкое распространение в течение одного или нескольких сезонов и самопроизвольно исчезали из циркуляции в Европе [195]. Во время эпидемии везикулярной экзантемы в Китае в 2008–2011 гг. основным циркулирующим вирусом был EV-A71, но более чем в половине случаев от больных с экзантемой выделяли CV-A16 и другие типы [177]. В других странах Юго-Восточной Азии вспышки EV-A71 могли быть вызваны в разные годы различными генотипами вируса (B и C), при этом принципиальных различий в клинической картине выявлено не было [194].

Во время вспышки серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. от больных чаще выделяли E6, однако у части лиц предполагаемым возбудителем менингита был E30, при этом явных различий в течение заболевания, вызванного вирусами разных типов не наблюдалось. Более того, филогенетический анализ показал, что выделенные от больных варианты E6 в ряде случаев имели общего предка за много лет до вспышки, то есть не были связаны между собой эпидемиологически [34].

Во время вспышек вирус может получать способность намного чаще вызывать симптоматическую инфекцию или атипичное заболевание. Так, во время вспышки менингоэнцефалита, вызванного EV-A71 в Ростове-на-Дону в 2013 г., 32 % детей с симптомами энтеровирусной инфекции (25 из 78) имели неврологические формы заболевания [75]. Такая частота нейроинфекции резко

контрастирует с аналогичной ситуацией на Тайване в 1998 г. (0,3 %) [143]. В другом примере возникновение новой клинической разновидности экзантемы, вызванной CV-А6, было связано с новым вариантом вируса, который появился незадолго до выявления первых случаев заболевания [135].

Перечисленные выше примеры свидетельствуют о широкой распространенности отдельных представителей энтеровирусов и многообразии клинических форм, ими обусловленных, что ставит перед эпидемиологами задачу по оценке значимости актуальных серотипов в развитии заболеваемости на отдельных территориях и разработке современных подходов к прогнозированию эпидемиологической ситуации с их участием.

Прогнозирование. Очевидно, что прогнозирование этиологической структуры ЭВНИ должно базироваться не только на ретроспективном анализе. Оценка множественности факторов их развития должна использовать данные молекулярно-генетического мониторинга с целью наиболее достоверного отражения видового состава популяции вируса, циркулирующей на территории и обусловившей эпидемическое неблагополучие, результаты оценки коллективного иммунитета, социально-гигиенического мониторинга и пр. [64]. Значимое место в структуре мониторинга должно отводиться исследованию образцов биологических материалов от здоровых носителей.

Так, в Дании (2014 г.) апробирована система эпидемиологического надзора за энтеровирусами, включающая скрининг респираторных образцов. Полученные при этом данные о клинических проявлениях инфекции и филогенетические описания редких энтеровирусов убедили в полезности данной системы, поскольку она позволила выявить и охарактеризовать редкие виды возбудителя [87].

В 2017 г. Сергеев А.Г., Устюжанин А.В., Романенко В.В., Снитковская Т.Э. и др. определили наиболее информативную возрастную группу для оценки интенсивности циркуляции НПЭВ среди населения - дети. При этом сравнительный филогенетический анализ НПЭВ, выделенных из фекалий здоровых детей и из ликвора больных ЭВМ показал высокое генетическое родство у штаммов одного серотипа, обнаруженных в одном эпидемическом

сезоне в ликворе больных и фекалиях индикаторной группы [58, 67].

Хорошо известно, что энтеровирусы человека в больших концентрациях встречаются в сточных водах и представляют собой опасность загрязнения окружающей водной среды и угрозу для здоровья человека [55]. Исследовано относительное обилие, встречаемость и сезонное распределение полио- и других энтеровирусов на трёх станциях очистки сточных вод (СОСВ) в Неаполе с января 2010 г. по декабрь 2014 г. Образцы необработанной и частично обработанной воды ежемесячно забирали на всех трёх СОСВ. При этом 165 из 731 образцов сточной воды (22,0 %) были позитивны на цитопатогенное действие (ЦПД) в культуре клеток RD, но ни один образец со всех трёх СОСВ не был позитивен в культуре клеток L208. Среди 140 НПЭВ, выделенных из необработанной воды, 69,3 % относились к Коксакивирусам В, 30,7 % - к ЕСНО. Чаще всего встречались CVB3, CVB5, CVB4 и ЕСНО6. После частичной обработки 21 образец воды содержал CVB4, CVB5, CVB3, ЕСНО11 и ЕСНО6; другие серотипы встречались реже. Исследования подтвердили возможность загрязнения окружающей среды НПЭВ [230].

Мониторинг циркуляции НПЭВ на территории Клермон-Ферран (Франция) с использованием сточных вод позволили обнаружить вирусы во всех 54 образцах воды. В среднем в сырой и обработанной воде были выявлены 6 и 4 видов вирусов. Образцы, позитивные на энтеровирусы, тестировали на EV-D68. В 27 образцах сырой воды этот серотип присутствовал. Данные о клинических случаях EV-D68 (n=17) показали скрытую циркуляцию этого вируса в 2015 г. Таким образом, экологический надзор, в отличие от исследований, ассоциированных с клиническими формами ЭВНИ и не имеющих ориентации на определённые виды, позволял в режиме реального времени обнаружить вирусные последовательности, родственные таковым из клинических образцов [89].

В 2013-2014 гг. на двух водоочистных предприятиях в районах Миньхан и Цзядин г. Шанхая в одни и те же дни забирали по одному образцу сточных вод объемом 1 л. Образцы концентрировали при помощи анионообменной абсорбции, прибавляли раствор говяжьего экстракта и затем инокулировали на

культурах клеток RD, HEp-2 и L208. Выделено 249 штаммов энтеровирусов, в том числе 185 штаммов неполиомиелитных и 64 – вакцинных полиовируса (PV). Для идентификации использовали ОТ-ПЦР и секвенирование по Сэнгеру. Среди 185 штаммов 178 успешно классифицировали до 15 генотипов, в том числе CVB2, CVB3, CVB5, ECHO1, 3, 6, 7, 11, 13, 19, 20, 24, 25 и 30, а также CVA4. На генотипы CVB5 и ECHO6 пришлось 33,5 % (56 штаммов), прочие НПЭВ - 24,9 % (43 штамма) [173]. Перескоковой М.А. (2008 г.) приведены сведения о циркуляции полиовирусов и НПЭВ в пробах сточных вод, собранных на территории Дальнего Востока (2000 – 2007 гг.). Обнаружение НПЭВ приходилось в основном на летне-осенний период, что совпало с усилением их циркуляции среди населения. Выявлена корреляция между выделенными серотипами энтеровирусов в сточных водах и циркулирующими штаммами среди населения. Показана роль водного фактора в инфицировании населения и поддержании эпидемического процесса [47]. Наиболее полный сравнительный анализ частоты и спектра НПЭВ, обнаруженных в сточной воде и биологическом материале от больных ЭВМ, приводится в работе Ivanova O., Yarmolskaya M., et al. (2019 г.) [152]. На основании проведенных исследований авторы делают вывод, что выявление НПЭВ в сточных водах позволяет получить определенное представление о спектре циркулирующих среди населения серотипов и интенсивности их циркуляции. Однако вопрос о том, насколько полным может быть такое представление, остается открытым в связи с рядом факторов, обусловленных как биологическими особенностями НПЭВ (способность к репродукции на клеточных культурах) так и химическим составом сточных вод, от которого зависит скорость инактивации вирусов.

Важным и, зачастую, недооценённым, фактором влияющим на выделение вирусов из сточных вод является преаналитический этап отбора проб. Так отсутствие достоверной информации об эффективности фильтрационных мембран ведет к расхождению результатов лабораторных исследований при оценке проб с реальной контаминацией воды вирусами [36].

Таким образом, несмотря на выстроенную систему эпидемиологического надзора за НПЭВ, многие вопросы, связанные с краткосрочными и долгосрочными прогнозами остаются нерешенными. До настоящего времени не разработан алгоритм анализа и интерпретации результатов мониторинга циркуляции энтеровирусов, что диктует необходимость поиска новых подходов, прежде всего, к повышению информативности методов прогнозирования на основе современных вирусологических и молекулярно-генетических методов исследования.

Для улучшения диагностики энтеровирусов, обобщения данных по тяжёлым формам ЭВНИ и мониторинга циркуляции отдельных типов создана Европейская сеть неполиомиелитных энтеровирусов (ENPEN). Первой задачей этой межгосударственной сети является обеспечение быстрой и адекватной диагностикой данных инфекций в Европе. Поэтому рекомендации по выявлению НПЭВ и их типированию на основе консенсусного взгляда включили мнение экспертов более чем из 20 европейских стран. Они рекомендуют при подозрении на неврологические инфекции направлять на тестирование респираторные образцы, образцы фекалий, а также спинномозговую жидкость (СМЖ) и кровь пациентов. Тест ОТ-ПЦР, нацеленный на некодирующие области 5' (5'NCR) может быть использован для диагностики энтеровирусов из-за высокой чувствительности, специфичности и коротких сроков производства. Также рекомендуют для типирования секвенировать капсидный участок VP1. Таким образом, эффективная стандартизованная лабораторная диагностика циркулирующих штаммов НПЭВ, являются первым шагом к эффективной профилактике ЭВНИ [139].

Ежегодно в России на базе трех научно-методических центров (г. Новгород, г. Екатеринбург, г. Хабаровск), проводится этиологическая расшифровка ЭВНИ с определением генотипа (субтипа). Первичная индикация возбудителя осуществляется на местах на базах территориальных ФБУН Роспотребнадзора преимущественно методом ОТ-ПЦР (в ряде случаев используют классические вирусологические методы). В подавляющем

большинстве медицинских организаций МЗ РФ лабораторная диагностика ЭВНИ не проводится. В научно-методические центры Роспотребнадзора, где проводят генотипирование НПЭВ методом секвенирования по Сэнгеру, поступает материал от больных с уже предварительно подтвержденным диагнозом ЭВНИ, а также от контактных лиц, носителей и с объектов внешней среды [40]. Известно, что для изучения свойств вирусов, широко используют органнне и клеточные культуры. Их применение в вирусологической практике связано с простотой культивирования, однородностью клеточного состава и возможностью количественного учёта клеток [131]. Клеточные культуры представляют собой незаменимую биосистему для титрования вирусов и изучения биохимических и молекулярно-биологических механизмов вирусного размножения в клетках [186]. Следует отметить, что в настоящее время не существует универсальной культуры клеток (или культуральной системы) для выделения энтеровирусов [20]. Некоторые штаммы энтеровирусов не обладают цитопатогенностью ни для одной из известных культур клеток и могут быть выделены только с использованием эмбриональных клеток человека или чувствительных лабораторных животных, что достаточно затратно и сложно в условиях лабораторий практического звена [31]. Таким образом, создание новых клеточных культур к актуальным клиническим изолятам энтеровирусов человека является актуальной вирусологической и эпидемиологической задачей.

Классическим и пока еще достаточно широко применяемым методом идентификации энтеровирусов в вирусологических лабораториях РФ является определение серотипа вируса в реакции нейтрализации с помощью типоспецифических диагностических сывороток. Производимый в настоящее время набор реагентов «Сыворотки диагностические энтеровирусные моновалентные сухие для реакции нейтрализации», включающий 33 сыворотки к НПЭВ и сыворотки к полиовирусу 1–3-го типов, является неотъемлемым и основным компонентом диагностики ЭВНИ. Главные недостатки этого метода – низкая цитопатогенность некоторых типов и недостаточная специфичность, приводящая к ошибочной идентификации типа вируса. Основными причинами

этого были антигенно-иммуногенная неравноценность многочисленных НПЭВ, а также видовые и индивидуальные особенности иммунологических реакций у животных-продуцентов различных видов. Проблема специфичности не актуальна для сывороток, изготовленных в США и Голландии, однако на сегодняшний день их производство прекращено. Попытки получения энтеровирусных нейтрализующих антител генно-инженерными методами не увенчались успехом, в плане реализации в условиях промышленного производства. Диагностический набор для ПЦР-анализа отечественного производства выявляет лишь энтеровирусную РНК для небольшого количества генотипов [27]. В связи с этим, актуальной задачей в области видовой идентификации и внутривидового типирования НПЭВ является широкое внедрение в работу методов секвенирования.

В последние годы развитие методов молекулярной генетики привело к резкому увеличению объема информации о нуклеотидной последовательности циркулирующих штаммов НПЭВ в международных базах данных, что позволяет проводить изучение эпидемиологии вирусов с недоступной ранее высокой точностью [63]. Молекулярная идентификация (определение нуклеотидной последовательности фрагмента генома, кодирующего структурные белки) позволяет определить тип (генотип) и подтип (субтип), как при исследовании клинических образцов, так и вирусов, выделенных в культуре клеток. Молекулярная идентификация НПЭВ методом секвенирования применяется все чаще, однако в полной мере доступна только нескольким специализированным центрам, на базе которых ежегодно в целом по РФ исследуется около 2000–2500 вирусосодержащих образцов. По итогам десятилетнего мониторинга в референс-центре по мониторингу ЭВНИ (ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора) было типировано около 3500 штаммов энтеровирусов, идентифицировано 52 типа. В их числе вирусы вида Энтеровирус А: Коксаки А2–6, 8, 10, 14, 16, EV-A71, EV-A76, EV-A120; вирусы вида Энтеровирус В: Коксаки А9, Коксаки В1–5, ЕСНО 1–7, 9, 11, 13–19, 21, 25, 29, 30,

31, 33, ЭВВ75; вирусы вида Энтеровирус С: Коксаки А1, 13, 17, 19, 20, 21, 22, 24, EV-C99, EV-C113, ЭВС116. Ежегодно выявлялось около 30-ти типов НПЭВ, при этом многие типы характеризовались наличием нескольких одновременно циркулирующих субтипов [48].

В настоящее время Международный комитет по таксономии вирусов определяет тип энтеровируса на основании сходства с другими вирусами более чем на 75 % нуклеотидной и 85 % аминокислотной последовательности в полной области генома VP1 (около 900 нуклеотидов, от 840 до 930 у разных типов). Благодаря тому, что рекомбинация в области генома, кодирующей структурные белки VP1, VP2 и VP3 (но не VP4) встречается редко [180–183, 212], любой из этих участков генома может быть использован для их типирования [211]. Однако точные критерии типа будут несколько отличаться из-за разной вариабельности этих участков генома. На практике же молекулярное типирование энтеровирусов в большинстве лабораторий мира, включая РФ, проводят на основании фрагмента области генома VP1 длиной около 370 нуклеотидов (так называемый «типировующий» фрагмент), который может быть амплифицирован с использованием универсальных праймеров [223]. Для этого фрагмента генома в базе данных GenBank доступно более 30 000 нуклеотидных последовательностей. Использование других структурных белков, таких, как VP2 является перспективным, однако требует дальнейшего детального изучения и научного обоснования [93, 183, 220]. Дополнительно с фрагментом генома VP1 используют участок 3CD [227].

Анализ «типировующего» фрагмента VP1 теоретически позволяет выявить не более 2–4 эволюционных событий в год. Этого достаточно для оценки циркуляции вирусов в масштабах страны, но недостаточно для расследования филодинамики вирусов, например, внутри вспышки. Даже полная последовательность области генома VP1 (около 900 н.о.), теоретически позволяет определять не более 5–15 событий в год и в целом подходит только для расследования крупных вспышек. Так, например, произошло в 2010 г. при вспышке полиомиелита в Таджикистане [284]. Учитывая то, что длительность

одного цикла энтеровирусной инфекции составляет порядка 3–10 дней, для достоверного расследования распространения вируса во время вспышек может быть рекомендовано определение полной нуклеотидной последовательности на базе полногеномного секвенирования. На сегодняшний день в системе надзора за энтеровирусами в РФ таких работ на регулярной основе не ведется. Проблема широкого использования филогенетических методов неотъемлемо связана с вопросом необходимой плотности молекулярно-генетического надзора за энтеровирусами [291]. Вместе с тем, с точки зрения выявления новых вариантов вирусов, плотность действующего надзора все еще нельзя признать адекватной. Этот показатель можно будет считать достигнутым, когда любой редкий генотип, присутствующий на территории РФ, будет представлен как минимум десятью образцами. Однако, в настоящее время определение большого количества нуклеотидных последовательностей практически идентичных вирусов нецелесообразно экономически, поскольку минимальную стоимость типирования одного вируса, без учета трудозатрат и накладных расходов, можно оценить в пределах 3000 рублей. Таким образом, вопросы совершенствования молекулярно-генетического мониторинга за ЭВИ имеют не только эпидемиологическую, но и экономическую составляющую.

IT-технологии при работе в очагах ЭВНИ. Поддержанию эпидемического процесса ЭВНИ способствуют характерные социально-экономические, демографические и экологические факторы. Среди них интенсивные миграционные процессы, особенности демографической структуры населения, социальное и медицинское обеспечение граждан. На фоне спорадической заболеваемости ЭВНИ, причины которой до сих пор изучены недостаточно, продолжают регистрировать крупные вспышки. Одной из таких групп риска являются лечебные и социальные организации. Всемирная база данных о вспышках нозокомиальных инфекций в настоящее время содержит опубликованные сведения за период с 1936 по 2017 год о 3583 вспышках, вызванных 307 различными патогенными биологическими агентами. Результатом поиска в базе данных PubMed Национальной медицинской библиотеки США по

запросу «*enterovirus nosocomial outbreak*» было найдено 22 литературных источника. Так, Huang F.L. et al. (2010) описали случаи групповой заболеваемости новорожденных, вызванные энтеровирусом EV-A71 в отделении новорожденных Тайваньского госпиталя [148]. Daboval T. et al. (2006) - очаг групповой заболеваемости, вызванной ЕСНО 7, в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных (7 пациентов) в течение 19-дневного периода осенью 2002 года в Канаде [118]. Takami T. et al. (1998), а также Wilson C.W. et al. (1989) опубликовали данные о заболеваемости ЭВНИ 4 пациентов, вызванной эховирусом E-7, в блоке интенсивной терапии. Все случаи у новорожденных начинались с клинической картины гастроэнтерита [263]. Описана нозокомиальная вспышка сочетанных инфекций в блоке ОРИТ отделения новорожденных в США с одновременной циркуляцией респираторно-синцитиального (РС) вируса и энтеровируса E-7. Было выявлено 73 ребенка с РС вирусной инфекцией, 20 детей с E-7 вирусной инфекцией и 6 детей с сочетанными формами РС и E-7 [279]. Cerny E. et al. (1983) представили данные об эпидемиологических особенностях, клинических проявлениях и результатах лабораторного обследования пациентов с ЭВНИ, обусловленных вирусом E-7 в отделении неонатологии (Германия) [101]. Chen J.H. et al. (2005) изучили очаг групповой заболеваемости ЭВНИ среди новорожденных в акушерском стационаре, вызванной энтеровирусом ЕСНО-11 на Тайване [106]. Apisarnthanarak A. et al. (2005) описали очаг групповой заболеваемости в отделении неонатологии госпиталя в Таиланде (12 случаев), вызванной энтеровирусом ЕСНО-11 [80]. Farcy C. et al. (2012) приведены результаты эпидемиологического расследования двух связанных между собой случаев нозокомиальной инфекции у недоношенных детей, вызванной энтеровирусом ЕСНО-11 (Франция). В ходе эпидемиологического расследования широко использовались методы генотипирования и филогенетического анализа. Вирус ЕСНО-11 чаще других упоминался в публикациях о нозокомиальных вспышках ЭВНИ в конце XX века [117, 129, 141, 199, 239, 259]. Jankovic B. et al. (1999) описали вспышку нозокомиальной инфекции у новорожденных в сентябре 1994 года в акушерско-

гинекологическом госпитале в Белграде (Югославия). Вирус E-17 был выделен из ректальных мазков и мазков с глотки от 8 детей и от матери первого заболевшего ребенка [153]. Kusahara K. et al. (2008) опубликовали данные о вспышке нозокомиальной инфекции, вызванной вирусом E-18 в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных в городе Фукуока (Япония) [170]. В работах Chambon M. et al. (1999) и Baily J.L. et al. (2000) была описана нозокомиальная вспышка ЭВНИ в городе Клермон-Ферран (Франция). У 70 % новорожденных с энтеровирусным менингитом определен энтеровирус E-30. Авторы статьи представили весомые доказательства того, что нозокомиальные вспышки ЭВНИ могут возникать спустя значительное время после окончания эпидемии в общей популяции [84, 102]. В Англии (2014 г.) в целях эпидемиологического и вирусологического мониторинга проведен анализ клинической информации о лабораторно подтвержденных случаях инфекции EV-D68 с тяжёлыми неврологическими и респираторными симптомами среди пациентов из медицинских учреждений первичной и вторичной медицинской помощи. Тестировали респираторные тампоны, собранные у пациентов с гриппоподобными заболеваниями (сентябрь 2013 г. - январь 2015 г.). У 89 % пациентов инфекция проявлялась в виде тяжёлых респираторных симптомов. Характеристика штаммов EV-D68 показала, что все они были генетически сходны со штаммами, выявленными в 2014 г. в США [98]. McDonald LL et al. (1971) описали вспышку нозокомиальной ЭВНИ, вызванную E-31 летом 1968 года в США в блоке интенсивной терапии отделения новорожденных [193]. Sato K. et al. (1998) - вспышку ЭВНИ, вызванную E-33, в родильном доме в Японии в 1994 г. [250], Eisenhut M. et al. (2000). - вирусом CV-A9, в отделении новорожденных [125]. Syriopoulou V.P. et al. (2002). - вирусом CV-B2, в период с 07 по 22 июля 1999г. в Греции. Всего заболело 20 новорожденных (18 с подтвержденным диагнозом и 2 с подозрением на ЭВИ) [261], Val A. et al. (2015) в 2014 году определили EV-D68 в качестве этиологического агента ЭВНИ среди пожилых людей с болезнью Альцгеймера из специализированного отделения в доме престарелых в пригороде Лиона (Франция). Средний возраст пациентов составил

89 лет [86]. В Китае, где ежегодно происходят эпидемии синдрома HFMD, в детской больнице Чонгкинского медицинского университета в период вспышки ЭВНИ проведено проспективное наблюдение с лабораторным обследованием 179 пациентов в возрасте от 2 месяцев до 16 лет, летальность составила 70,94 %. К факторам риска отнесены, пол, клиническое состояние, соматический статус и сроки госпитализации [294]. Soudée S, Schuffenecker I, Aberchih J. (2012 г.) собрали демографические и клинические данные о новорожденных, госпитализированных по поводу ЭВНИ (Национальный референс-центр надзора за энтеровирусами Лион), 120 случаев неонатальной инфекции, у детей чаще других вызывали CV-B4 и E-11. Среди факторов риска отмечены поражения печени (73 %) и гематологические поражения (тромбоцитопения 82 %, коагулопатия 64 %) [258].

Таким образом, было установлено, что большинство случаев нозокомиальных вспышек ЭВНИ имеют место среди детей в отделениях для новорожденных. Они, как правило, характеризуются полиморфизмом клинической картины заболевания в пределах одного серотипа возбудителя и одного очага инфекции. Среди установленных возбудителей в наибольшем количестве публикаций присутствовали вирусы вида *Enterovirus B*. Одной из мер по улучшению диагностики ЭВНИ у новорожденных рекомендован вирусологический или молекулярно-генетический скрининг детей с подозрением на сепсис в случае неустановленной этиологии заболевания [138].

Актуальность эпидемиологического расследования случаев ЭВНИ в очагах групповой заболеваемости бесспорна, является ведущим компонентом эпидемиологической диагностики и проводится в рамках ретроспективного и оперативного эпидемиологического анализа [61]. Однако, как показывает современная практика, результаты такого анализа в настоящее время не позволяют установить причины проявлений эпидемического процесса, характерных для ЭВНИ и специфичных для определенных пространственно-временных условий. В связи с этим в ряде случаев причины высокой заболеваемости остаются не вскрытыми, а эпидемиологическая диагностика

ограничивается лишь постановкой гипотез. Прежде всего, это связано с отсутствием карт эпидемиологического обследования очагов с учетом специфики ЭВНИ, а также адаптированных доступных российских программных продуктов, обеспечивающих простоту и оперативность сбора и обработки статистических данных, что диктует необходимость совершенствования информационных технологий и программного обеспечения при работе эпидемиологической службы на территориальном и учрежденческом уровне. Внедрение в практику современных методов биostatистики, позволило бы оперативно и достоверно устанавливать причинно-следственные связи между факторами риска и заболеваемостью ЭВНИ для принятия управленческих решений по ее сдерживанию, снижению и профилактике.

Эпидемиологический контроль ЭВНИ. В настоящее время основу эпидемиологического контроля ЭВНИ составляет комплекс санитарно-гигиенических мероприятий (неспецифическая профилактика) [72]. С учетом множественности путей и факторов передачи возбудителей ЭВНИ, включая внутрибольничное инфицирование, актуальной задачей, требующей безотлагательного решения, является работа по двум ведущим направлениям: разработка высокоактивных противомикробных средств и повышение эффективности способов дезинфекционной обработки.

Получение новых препаратов из группы средств неспецифической профилактики невозможно без изучения и глубокого понимания структурно-функциональных аспектов взаимодействия вирусов с различными клеточными рецепторами в процессе связывания, интернализации и внутриклеточного трафика [191]. От этого зависит эффективность элиминационной терапии, целью которой является снижение вирусной нагрузки во «входных воротах» инфекции. Однако, в настоящее время многие аспекты процессов интернализации и депротенизации НПЭВ остаются вне поля зрения ученых.

К настоящему времени процесс интернализации детально изучен лишь на модельных экспериментальных системах *in vitro* в отношении некоторых серотипов энтеровирусов, относящихся к виду В: ЕСНО 1, 6, 7 и 11 серотипов

[69], вирусов Коксаки А9 [229], Коксаки В3 [99, 120, 254] и А21 [253]. Изучение данного явления весьма актуально, поскольку обеспечивает понимание молекулярных механизмов развития эпидемического процесса энтеровирусной инфекции на клеточном и субклеточном уровне и будет способствовать расширению теоретических основ для разработки таргетированных лекарственных и профилактических средств различного назначения.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в 2009 году впервые опубликовала международные рекомендации по гигиене рук с целью профилактики инфекций [277], поскольку гигиена рук является единственной эффективной стратегией в достижении этой цели [234]. Руководство ВОЗ предельно четко изложило алгоритм действий: мытье рук мылом и водой должно ограничиваться ситуациями, когда руки визуальнo загрязнены, на кожу попала кровь либо иные биологические жидкости, а также после посещения туалета. Во всех остальных клинических ситуациях предпочтительно использовать спиртосодержащий антисептик в качестве базового метода обеззараживания. Следовательно, большинство ситуаций, когда руки должны быть чистыми, требуют обработки антисептиком [71]. В настоящее время наиболее перспективной группой антисептиков считаются спиртосодержащие формы, как обладающие наиболее широким спектром антимикробной активности, а также позволяющие быстро и качественно осуществить обработку кожных покровов. Лидирующая роль в них на протяжении десятилетий принадлежит этиловому спирту. В группу спиртосодержащих антисептиков входят также препараты на основе пропилового и изопропилового спиртов. В состав данных антимикробных средств в качестве действующих веществ помимо изопропанола входят катионные поверхностно-активные вещества (ПАВ). Антисептическое действие пропиловых спиртов, как и этилового спирта, основано на денатурации белков микроорганизмов. В литературе имеются данные о том, что эффективность обеззараживания естественной и искусственной обсеменённости рук выше у водных растворов изопропилового спирта по сравнению с растворами этилового спирта. Минусом пропанолсодержащих препаратов является их малая активность

в отношении устойчивых форм вирусов, в частности они не оказывают воздействия на мелкие РНК – содержащие вирусы, к которым относят НПЭВ. Пропанола, относящиеся к 3-му классу умеренно-опасных веществ, значительно токсичнее этанола. Помимо негативного воздействия на кожу и непереносимый многими запах, пропанола токсичны при вдыхании, их предельно-допустимая концентрация (ПДК) в воздухе в 100 раз ниже, чем у этанола. При длительном контакте с пропиловыми спиртами наблюдается раздражение слизистых оболочек глаз, сужение полей зрения и снижение его остроты. В литературе имеются описания острых отравлений изопропиловым спиртом в результате кожной аппликации, а также при ингаляционном воздействии. Большая токсичность изопропанола по сравнению с этанолом является серьёзной проблемой при использовании его в качестве основного действующего вещества. Перспективным направлением является использование водных антисептиков. В отличие от спиртосодержащих препаратов, обладающих дубящим действием на кожу и слизистые оболочки, водные растворы не ухудшают водно-жировой баланс кожи, не сушат её, что обеспечивает возможность их длительного применения для регулярной обработки рук. К недостатку водных кожных антисептиков по сравнению со спиртосодержащими, относят более длительное время высыхания рук при использовании одинаковых объёмов, т.к. скорость испарения спиртов выше скорости испарения воды.

Современные антисептики должны обладать благоприятными физико-химическими (растворимость, стабильность и др.), и потребительскими качествами (моющее, чистящее, отбеливающее, дезодорирующее, гомогенизирующее и др.). В отличие от других химических средств, с которыми контактирует человек, они сознательно наносятся на поверхность кожи. При этом антисептические средства предполагают многократное (в течение рабочего дня несколько раз) и длительное (несколько месяцев, лет) применение их медицинским персоналом в различных учреждениях здравоохранения.

Вне зависимости от состава и формы выпуска кожные антисептики должны обладать высокой активностью с полным спектром антимикробного действия

(бактерии, вирусы, грибы), способностью подавлять наиболее адаптированные к внешним воздействиям микроорганизмы, отсутствием деструктирующего влияния на кожу, полной безопасностью для здоровья персонала и пациентов при рекомендуемых режимах обработки кожи и экологической безопасностью [3, 4].

Необходимость в разработке новых препаратов возникла давно и обусловлена разнообразными причинами: расширением антимикробного спектра, повышением активности в отношении «проблемных» возбудителей, постоянным возникновением мультирезистентных форм, появлением новых видов опасных патогенов, снижением токсичности препаратов и др. Поэтому арсенал кожных антисептиков необходимо пополнять новыми видами. Одним из перспективных направлений считают разработку кожных антисептиков на основе растительного сырья [33]. В качестве кандидатов рассматривают растения, произрастающие на территории РФ, что весьма актуально не только с точки зрения их эффективности, но и в рамках программы по импортозамещению.

Еще одним из способов защиты персонала и объектов окружающей среды от возбудителей инфекционных заболеваний, включая представителей вирусных инфекций, является аэрозольный метод дезинфекции [1, 23]. Он с успехом применяется для очистки воздуха и поверхностей различного рода помещений ввиду значительного преимущества перед другими методами обеззараживания [70]. Масштабное применение аэрозольной дезинфекции систем вентиляции произошло по причине инновационных решений, включая проектирование современных учреждений с устройствами наружных подвесных систем вентиляции из металлических конструкций. Актуальность использования аэрозольной дезинфекции также продиктована возможностью доступа в любой участок внутренней поверхности воздуховодов (требования ГОСТ Р ЕН 1377-2007 по проектированию); необходимостью обработки поверхностей без предварительного демонтажа воздуховодов и агрегатов. Широкое внедрение в практику аэрозольной дезинфекции способствовало выходу на рынок большого количества аэрозольных генераторов, в том числе зарегистрированных, как медицинские изделия [13].

В настоящий момент предложено несколько способов дезинфекции систем вентиляции без их сопутствующего демонтажа. Один из них заключается в подаче дезинфицирующего раствора в виде аэрозоля в приточную вентиляцию, работающую с механическим побуждением, на уровне воздухозаборника, после чего происходит протягивание аэрозоля воздушным потоком по воздуховодам до появления на выходе признаков (следов) дезинфицирующих средств. Расход дезинфицирующего средства при этом составляет 50-150 мл на кв. м. поверхности воздуховодов. Для производства аэрозоля предлагается применять механические и электрические аэрозольные генераторы. При тестировании данного способа было установлено, что 90 % аэрозоля задерживается на первых поворотах воздуховода. На конечных выходах приточной вентиляции определялись только следы дезинфицирующего средства. Следов самого дезинфектанта (в виде капель, либо подтеков) не наблюдалось. При контроле качества дезинфекции (тест-штампы) в области выходных вентиляционных отверстий был получен рост тест-штаммов, таким образом, цель проведения дезинфекционных мероприятий не была достигнута. При способе дезинфекции систем приточной вентиляции и кондиционирования воздуха, отмечались аналогичные недостатки. В патенте № 2574910(2016) предлагалось проведение дезинфекции путем размещения на входе или выходе вентиляционного канала устройства (например, картриджа), содержащего дезинфицирующее средство, которое испарялось под действием потока воздуха, проходящего через вентиляционный канал. Сложность метода состояла в программировании скорости и уровня испарения дезинфицирующего средства (насыщение воздуха основным действующим веществом), так как на данные процессы однозначно влияют температура, влажность воздуха и атмосферное давление. Следовательно, становится невозможным поддержание оптимальной дозировки действующего вещества на единицу площади с целью обеспечения биоцидного эффекта. Кроме того, является проблематичным нахождение людей в обрабатываемых помещениях из-за угрозы негативного воздействия постоянных и, возможно, повышенных концентраций дезинфектанта. Из описания данного метода следует, что непосредственной дезинфекции

подвергается лишь столб воздуха на расстоянии до 30 см от вентиляционной решетки. Следовательно, «дезинфекции вентиляционной системы, включающей дезинфекцию вентиляционного канала» не происходит. Поиск более совершенного метода дезинфекции систем вентиляции остается актуальной темой правильного выбора способа обработки поверхностей воздуховодов, который гарантирует обеззараживание системы вентиляции, обеспечит безопасность исполнителей и окружающей среды и будет направлен, в том числе, на решение актуальной эпидемиологической и социальной задачи по эффективной профилактике ЭВНИ.

Большой мировой и Российский опыт изучения проблемы ЭВНИ, а также значительный объем накопленных теоретических и практических знаний о заболеваемости, клинических формах и циркуляции НПЭВИ, ставит вопросы научно-обоснованного и рационального использования этих знаний для эффективного воздействия на эпидемический процесс. Созданная в XI веке в РФ система эпидемиологического надзора за ЭВНИ работает на современном научно-методическом уровне. Однако, ряд ее положений требует дополнительного всестороннего изучения и внесения дополнений. Для конвертации достижений надзора в снижение заболеваемости необходимо более глубокое понимание участия отдельных представителей НПЭВ в развитии заболеваемости на отдельных территориях и изучение их этиологической значимости при определенных клинических формах, и возникновении заболеваний в разных возрастных группах. Одним из стратегических направлений в эпидемиологическом надзоре за ЭВНИ является прогнозирование этиологии при различных клинических формах на основе эффективных и экономически обоснованных методов лабораторной диагностики.

Актуальными проблемами, требующими безотлагательного решения, являются разработка методологии краткосрочного и долгосрочного прогнозирования развития эпидемического процесса ЭВНИ с использованием новых программных продуктов, а также совершенствование средств и способов неспецифической профилактики.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа проводилась в рамках прикладных и фундаментальных исследований в области эпидемиологии, диагностики и профилактики вирусных инфекций и применения их результатов в медицине по комплексному научно-методическому и практическому обеспечению профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на поддержание биологической безопасности населения Уральского федерального округа по социально значимым вирусным инфекциям в рамках реализации отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно-ориентированные научные исследования в области надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016 – 2020 годы».

По направлению 1 «Оптимизация системы эпидемиологического надзора с целью своевременного прогнозирования развития эпидемиологической ситуации и принятия управленческих решений. Оценка экономической значимости инфекционных и паразитарных заболеваний» Разработка алгоритма анализа и интерпретации результатов молекулярно-генетического мониторинга циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов с оценкой прогностических показателей риска неблагоприятного развития эпидемиологической ситуации по заболеваемости энтеровирусным менингитом. НИР предусмотрена п. 1.5.2. Программы. Регистрационный номер в ЕГИС НИОКР АААА-А16-116061710036-0.

По направлению 3. «Разработка и внедрение современных средств и методов специфической профилактики и лечения инфекционных и паразитарных заболеваний» «Разработка и изучение фармакологических свойств медицинских иммунобиологических препаратов на основе биологически активных веществ, продуцируемых диплоидными клетками животного происхождения. Изучение возможностей использования клеточных культур для биотехнологии». НИР предусмотрен п. 3.1.11. Программы. Регистрационный номер в Единой

государственной информационной системе учета результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ гражданского назначения, выполняемых за счет средств федерального бюджета АААА-А16-116061710033-9.

Основные направления представленной научно-исследовательской работы по базовым параметрам соответствовали мероприятиям в рамках реализации Указа Президента Российской Федерации от 31 декабря 2015 г. № 683 «О стратегии национальной безопасности Российской Федерации», Указа президента РФ от 9.10.2007 № 1351 «Об утверждении Концепции демографической политики РФ на период до 2025 г.», Государственной программы РФ «Развитие здравоохранения» от 26.12.2017 г. № 1640, Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 гг.».

2.1 Дизайн исследования

Диссертационное исследование носило комплексный многоэтапный характер и проводилось в пять этапов.

На I этапе анализировались доступные литературные источники по изучаемой проблеме, осуществлялся сбор первичного материала, были определены методы исследования.

На II этапе проведен ретроспективный анализ заболеваемости ЭВНИ в Российской Федерации за четырнадцать лет (2006-2019 гг.), когортные исследования и проспективное эпидемиологическое наблюдение с целью сравнительной оценки этиологии ЭВНИ при различных клинических формах и в различных возрастных группах населения (2017-2019 гг.)

На III этапе разрабатывались подходы к прогнозированию этиологии энтеровирусных инфекций на примере крупного мегаполиса, совершенствовались методы вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга за НПЭВ.

На IV этапе разработан проект информационной системы эпидемиологической диагностики энтеровирусных инфекций.

На V этапе, завершающем диссертационное исследование, оптимизированы подходы к неспецифической профилактике ЭВНИ, апробированы новые средства и способы профилактики, а также проведена статистическая обработка материала и оформлена оригинальная рукопись.

2.2 Материалы исследования

Нормативная документация

Форма федерального статистического наблюдения №1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» месячная;

Форма федерального статистического наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», годовая;

Форма отраслевого статистического наблюдения №23-06 «Сведения о вспышках инфекционных заболеваний»;

Форма № 23-09 «Сведения о вспышках инфекционных заболеваний»;

Форма № 23-17 «Сведения о вспышках инфекционных заболеваний»;

Акты эпидемиологического расследования очага инфекционной (паразитарной) болезни с установлением причинно-следственной связи, утверждённые постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 21 октября 2010 г. № 133 «Об оптимизации противоэпидемической работы и утверждении формы акта эпидемиологического расследования очага инфекционной (паразитарной) болезни с установлением причинно-следственной связи»);

Внеочередные донесения о групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией (предусмотренные «Порядком представления внеочередных донесений о возникновении чрезвычайных ситуаций санитарно-

эпидемиологического характера», утверждённые постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 4 февраля 2016 г. № 11 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера»;

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации» (2006-2010 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации» (2011-2018 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Свердловской области» (2013-2018 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Курганской области» (2011-2017 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Тюменской области» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Ханты-Мансийского автономного округа - Югра» (2009-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ханты-Мансийского автономного округа - Югра» (2013-2018 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ямало-Ненецкого автономного округа» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Челябинской области» (2006-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Челябинской области» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Алтайского края» (2006-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Алтайском крае» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Кемеровской области» (2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Новосибирской области» (2006-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Омской области» (2006-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Омской области» (2012-2018 гг.);

Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке на территории Томской области» (2006-2011 гг.);

Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Томской области» (2012-2018 гг.).

Таблица 1

Объем объектов наблюдения

для анализа заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией

Материалы исследования	Количество
Государственные доклады «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения», Государственные доклады «О санитарно-эпидемиологической обстановке»	115
Форма №1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», месячная	492
Форма №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», годовая	182
Акты эпидемиологического расследования очага инфекционной (паразитарной) болезни с установлением причинно-следственной связи	42
Внеочередные донесения о групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией	80

Всего: 911 форм статистического наблюдения.

Объем лабораторных исследований

Виды исследования	Количество исследований
ПЦР исследования образцов фекалий детей индикаторной группы (3-6 лет) на наличие РНК НПЭВ, г. Екатеринбург	4368
ПЦР исследования образцов ликвора больных ЭВМ на наличие РНК НПЭВ, г. Екатеринбург	534
ПЦР исследования образцов сточных вод на наличие РНК НПЭВ, г. Екатеринбург	674
Генотипирование НПЭВ, выделенных из образцов фекалий детей индикаторной группы (3-6 лет), г. Екатеринбург	132
Генотипирование НПЭВ, выделенных из ликвора больных ЭВМ, г. Екатеринбург	422
Генотипирование НПЭВ, выделенных из сточных вод, г. Екатеринбург	22
ПЦР исследования клинического материала от больных ЭВИ в Уральском федеральном округе и Западной Сибири	1924
Генотипирование НПЭВ, выделенных из клинического материала от больных ЭВИ в Уральском федеральном округе и Западной Сибири	1529

Всего: 9 605 исследований.

Для филогенетического анализа использованы 52 нуклеотидные последовательности 1А-1В участков генома Coxsackievirus B5, и 81 нуклеотидная последовательность 1А-1В участков генома Echovirus E30.

Всего: 133 нуклеотидных последовательностей.

Для оценки инфекционной активности клонов вируса ЕСНО-11 (431-1 и 431-6) в эксперименте с одиночным циклом репродукции без роданина и в присутствии роданина проведено 18 серий эксперимента.

При изучении антибактериальной активности экстрактов растительных веществ природного происхождения - кандидатов к использованию в качестве антисептических средств с тест-штаммом *E. Coli* (1257) – 24 серии постановочных опытов.

При оценке вирулицидной активности экстрактов растительных веществ природного происхождения с высокой антибактериальной активностью -

кандидатов к использованию в качестве антисептических средств – 12 экспериментальных исследований.

Микробиологическая эффективность нового способа аэрозольной дезинфекции с тест-культурой *Staphylococcus aureus* (960) и с вакцинным штаммом полиовируса 1 типа *Sabin* (*LSc-2ab*) – 20 экспериментальных исследований.

Всего: 74 серии научных экспериментов.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Эпидемиологические

Основной метод исследования – эпидемиологический. В работе использованы описательно-оценочные эпидемиологические исследования (статистическое наблюдение, основанное на изучении отчетно-учетной документации, ретроспективный эпидемиологический анализ и проспективное эпидемиологическое наблюдение) и аналитические эпидемиологические исследования (исследование «случай-контроль»).

В ходе ретроспективного эпидемиологического анализа изучены абсолютные показатели заболеваемости населения, интенсивные показатели заболеваемости энтеровирусными инфекциями (сл./100 тыс.), интенсивность эпидемического процесса, многолетняя и внутригодовая динамика, структура ЭВНИ по клиническим формам, возрастным группам и распределение заболеваемости по административным территориям и по группам территорий с различным уровнем заболеваемости.

В ходе ретроспективного эпидемиологического анализа изучены основные проявления эпидемического процесса ЭВНИ: интенсивность, многолетняя и

внутригодовая динамика, структура по клиническим формам, возрастным группам, распределение заболеваемости по административным территориям и по территориям с различным уровнем заболеваемости, очаговость.

Ранжирование территорий по уровню заболеваемости населения в различных регионах Уральского федерального округа и Западной Сибири проводили на основании статистически значимых различий по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$) между многолетней медианой заболеваемости ЭВНИ рассматриваемой территории и многолетней медианой заболеваемости ЭВНИ населения Российской Федерации. Для исключения влияния рассматриваемой территории на заболеваемость ЭВНИ в РФ, предварительно из абсолютного числа больных ЭВНИ в РФ вычитали число больных ЭВНИ рассматриваемого региона, аналогично вычли из численности населения РФ численность населения рассматриваемой территории.

Для расчета интенсивных показателей использовали данные Федеральной службы государственной статистики о численности различных возрастных и половых групп населения всех участвующих в исследовании территорий, опубликованные в Единой межведомственной информационно-статистической системе (ЕМИСС). Система представляет собой государственный информационный ресурс, объединяющий официальные государственные информационные статистические ресурсы, формируемые субъектами официального статистического учета в рамках реализации федерального плана статистических работ. Система введена в эксплуатацию совместным приказом Минкомсвязи России и Росстата от 16 ноября 2011 года №318/461.

Ввиду отсутствия части данных в формах официальной статистической отчетности (помесячная заболеваемость, количество выявленных очагов и их характеристика и пр.) анализ данных за 14 лет (2006 - 2019 гг.) не представлялся возможным, в связи с чем, отдельные проявления эпидемического процесса проанализированы за более короткий промежуток времени: внутригодовая динамика за 2013 - 2018 гг., вспышечная заболеваемость за 2006 - 2018 гг., возрастная структура – за 2010 - 2019 гг.

2.3.2 Математическое моделирование

Для построения линий трендов подбор коэффициентов в математических моделях определяли по методу наименьших квадратов. Использовали следующие аппроксимации:

- линейная аппроксимация: $y=a*x+b$;
- логарифмическая аппроксимация: $y=a*\ln(x)+b$;
- степенная аппроксимация: $y=bx^a$;
- экспоненциальная аппроксимация: $y=b*e^{a*x}$;

Подбор оптимальной математической модели осуществляли с использованием трёх статистических показателей: коэффициента детерминации, критерия Фишера, стандартной ошибки для оценки «у». Коэффициент детерминации (R^2) представляет собой квадрат коэффициента корреляции между анализируемыми данными и трендом. Коэффициент детерминации оценивает долю дисперсии (изменчивости) «у», которая объясняется с помощью «х» в простой линейной регрессионной модели. Критерий Фишера (F-критерий) позволяет сравнивать величины выборочных дисперсий двух рядов наблюдений (анализируемых данных и тренда). Стандартная ошибка для оценки «у» – статистический показатель, который оценивает, насколько близко измеренные данные лежат к линии регрессии. Ошибка оценки «0» означает, что каждая точка лежит непосредственно на линии. Чем выше ошибка оценки, тем дальше от линии регрессии лежат точки.

Робастность временных рядов обеспечивали путём выявления выбросов по методу Тьюки [79] при этом заменяли выбросы значением, рассчитанным по методу простого скользящего среднего, имеющего период сглаживания, охватывающий текущее значение и два предшествующих значения. Размер периода сглаживания подбирали по наименьшей средней ошибке простого скользящего среднего.

Для оценки выраженности тенденций эпидемического процесса в многолетней динамике использовали также показатели среднегодового темпа прироста.

В связи с тем, что рассматриваемые временные ряды не превышали 14 наблюдений (период наблюдений 14 лет), невозможно было с достаточным уровнем статистической значимости отклонить гипотезу об отсутствии нормальности распределения. Исходя из этого, использовали методы непараметрической статистики.

Для определения наличия и степени линейной зависимости между двумя множествами данных применяли коэффициент корреляции Спирмена.

Для сравнения двух независимых выборок был выбран критерий Манна-Уитни.

Периодичность подъёмов и снижения заболеваемости была наглядно продемонстрирована с использованием периодограмм и рассчитана с использованием одномерного спектрального анализа Фурье.

Стационарность временных рядов также проверяли непараметрическим тестом. Для проверки постоянства математического ожидания использовали тест Манна – Уитни: сравнивали два равных или разделённых по близкой к середине критической точке отрезка временного ряда.

Внутригодовую динамику заболеваемости ЭВНИ оценивали на основании помесечного распределения случаев заболеваний на территории Российской Федерации в период наблюдения с 2013 по 2019 гг. Для расчёта эпидемического порога использовали методику, предусмотренную МР 3.1.2.0118-17. 3.1.2. Эпидемиология. Профилактика инфекционных болезней. Инфекции дыхательных путей. Методика расчета эпидемических порогов по гриппу и острым респираторным вирусным инфекциям по субъектам Российской Федерации».

Для анализа временных рядов ежемесячной заболеваемости использовали классическую сезонную декомпозицию, метод Census I. В основе метода лежит предположение, что временной ряд включает в себя четыре различные компоненты: сезонная компонента (обозначается St , где t обозначает момент

времени), тренд (Tt), циклическая компонента (Ct) и случайная, нерегулярная компонента или флуктуация (It). Разница между циклической и сезонной компонентой состоит в том, что последняя имеет регулярную (сезонную) периодичность, тогда как циклические факторы обычно имеют более длительный эффект, который к тому же меняется от цикла к циклу. В методе Census I тренд и циклическую компоненту обычно объединяют в одну тренд-циклическую компоненту (TCt). Конкретные функциональные взаимосвязи между этими компонентами могут иметь самый разный вид. Однако, можно выделить два основных способа, с помощью которых они могут взаимодействовать: аддитивно и мультипликативно:

- аддитивная модель: $X_t = TCt + St + It$

- мультипликативная модель: $X_t = Tt * Ct * St * It$

Где X_t обозначает значение временного ряда в момент времени t .

В вычислительном отношении процедура метода Сезонной декомпозиции (Census I) следует стандартным формулам [187].

Возрастную структуру ЭВНИ, в многолетней динамике заболеваемости среди детей и взрослых рассматривали за период с 2010 по 2019 год.

Анализ заболеваемости отдельными клиническими формами ЭВНИ проводили для Российской Федерации с 2006 по 2018 гг., для территорий Уральского федерального округа и Западной Сибири с 2006 по 2019 гг. Сравнения проводили в пределах совпадающих периодов.

Определение групп риска осуществляли в сравнительных исследованиях при помощи расчёта отношения рисков, группы риска сопоставляли с использованием доверительных интервалов. Данными для расчёта послужили сведения о случаях заболевания ЭВНИ в группах риска и контрольных группах. Таким образом, сравнивались различные возрастные группы (группа риска – дети, контрольная группа – взрослые), население различных территорий (группа риска – лица, проживающие на территории с высоким уровнем заболеваемости, контрольная группа – лица, проживающие на территории с низким уровнем заболеваемости). Учитывая, что период наблюдения превышал 1 год (для

возрастного фактора риска период составил 10 лет, для территориального – 14 лет) использовали среднемноголетние значения (среднее число случаев и средняя численность населения. Указанными данными заполняли таблицы сопряжения (четырёхпольные таблицы). Если условно обозначить данные в четырёхпольной таблице (2 на 2 ячейки) буквами латинского алфавита: первая строка А, В, вторая строка С, D, то формула расчёта отношения рисков (RR) имеет вид:

$$RR = A*(C+D)/C*(A+B),$$

при этом доверительный интервал для вероятности 95 % (p=95 %) составляет от $e^{\ln(RR)-1.96*\sqrt{\frac{B}{A*(A+B)}+\frac{D}{C*(C+D)}}$ до $e^{\ln(RR)+1.96*\sqrt{\frac{B}{A*(A+B)}+\frac{D}{C*(C+D)}}$.

2.3.3 Лабораторные

Отбор проб и первичный посев образцов биологического материала.

Биологическим материалом, поступающим из очагов ЭВНИ, являлись образцы фекалий, ликвор, назофарингеальные смывы и плазма крови. От здоровых детей индикаторной группы в г. Екатеринбурге за период с 2011 по 2017 гг. были получены и обследованы молекулярно-генетическими методами образцы фекалий, от больных ЭВМ г. Екатеринбурга за тот же период наблюдения получены и исследованы образцы ликвора.

Все образцы биологического материала хранили и транспортировали в замороженном виде, при температуре не выше -20°C , с соблюдением «холодовой цепи». Для доставки в лабораторию энтеральных вирусных инфекций ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора использовали услуги экспресс-почты со сроками доставки не более 2-3 дней. Пробы упаковывали в герметичный жесткий пенопластовый термоконтейнер. Для охлаждения использовали "сухой" лед или хладагент в пластиковой упаковке, предварительно замороженные до -70°C .

Транспортирование проб осуществляли в герметически закрытых емкостях. Использовались пробирки емкостью 1,5 - 2,0 мл с плотно завинчивающимися крышками.

Сбор фекалий от больных ЭВНИ проводили в первые сутки нахождения пациента в стационаре, в соответствии с рекомендациями «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора (2008г.). Отбор проб фекалий у грудных детей проводился из одноразового подгузника. При обследовании детей старшего возраста забор проводился из одноразовых пластиковых пакетов, помещаемых в судно или другую емкость для дефекации. Образцы фекалий хранили и транспортировали в виде фекальной суспензии. Для ее приготовления 2-3 гр. фекалий суспензировали в 1 - 1,5 мл физиологического раствора или культуральной среды.

При отдельных клинических формах отбор клинического материала производили из других локусов: при ЭВМ – пробы ликвора, при клинических формах с экзантемой слизистых и кожи (в т.ч. герпангина и везикулярный стоматит) - носоглоточные смывы или мазки с места поражения. От нескольких пациентов была доставлена замороженная плазма крови.

Индикаторной группой населения, подлежащей обследованию на НПЭВ, являлись практически здоровые дети от 3-х до 6-ти лет. Материалом для исследования служили пробы фекалий. Отбор проб проводили в паразитологических (клинических) лабораториях детских больниц, расположенных в разных районах города Екатеринбурга. Пробу с биологическим материалом в объеме 0,1-0,2 г помещали в пронумерованные пробирки типа «эппендорф», вместимостью 1,5 мл, содержащие 1,0 мл стерильного изотонического раствора. Пробы хранят в морозильной камере холодильника при температуре минус 18-20°С. Количество проб, отбираемых по дням рабочей недели, должно распределялись равномерно. Сбор материала проводился от детей, не проживающих вместе, или детей из разных групп детского дошкольного учреждения. Сведения о биологическом материале, собранном в течение недели,

оформляли на отдельном бланке. Доставку проб осуществляли еженедельно в период эпидемического сезона ЭВИ (с мая по ноябрь).

Численность репрезентативной выборки для определения циркулирующих серотипов среди детей индикаторной группы определяли по формуле согласно МУ 3.1.3114/1-13 «Организация работы в очагах инфекционных и паразитарных болезней»:

$$n = (I \times q \times t^2 \times N) / ((N \times D^2) + (I \times q \times t^2)),$$

где n- искомая численность выборки;

N- численность популяции;

t- критерий достоверности (равен 1,96);

I - предполагаемая частота носительства на 100 тыс.;

q = (R- I) где,

R - используемая размерность показателя I;

D - выбранная предельно допустимая ошибка показателя (максимально допустимая ошибка (составляет не более 25% от величины показателя I).

ПЦР-диагностика. Первый этап исследования биологического материала от больных ЭВНИ проводили в течение 24 часов после сбора фекалий и включал предварительное тестирование собранных образцов на присутствие НПЭВ. Тестирование проводили в условиях лабораториях Центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации с использованием набора реагентов для выявления РНК энтеровирусов (Enterovirus) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс® Enterovirus-FL" (производитель – ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) в соответствии с Методическими рекомендациями по применению набора реагентов для выявления РНК энтеровирусов человека (Human enterovirus) в объектах окружающей среды и биологическом материале

методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Enterovirus-FL» Формат FEP/FRT (производитель – ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора). Выделение нуклеиновых кислот производили с использованием комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» (производитель – ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора).

Секвенирование. Положительные на НПЭВ пробы направляли в лабораторию энтеральных вирусных инфекций ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора, где также проводилось контрольное (подтверждающее) исследование образца методом ПЦР на наличие РНК НПЭВ. Выделенные клонированные ДНК подвергали секвенированию участка генома, с последующим генотипированием выделенных штаммов.

Генетическая структура НПЭВ определена на основе генотипирования штаммов из материала, взятого от пациентов с клиникой ЭВНИ и от контактных лиц в период эпидемического подъема заболеваемости (три эпидемических сезона). Для анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов генов VP1, VP2, VP4 а также 5`-нетранслируемой области НПЭВ проводили секвенирование соответствующих локусов вирусного генома по методу дезоксисеквенирования (также обозначаемому как метод терминаторов или метод обрыва цепи), предложенному F. Sanger [249]

Для проведения двух раундов полувложенной ПЦР до 2017 года использовали праймеры для наиболее консервативных участков генома НПЭВ [82, 100, 215, 220, 247].

С 2018 г. использована модификация метода с применением флуоресцентно меченных дидезоксинуклеотидтрифосфатов. Продукты секвенирующей амплификации (меченые фрагменты ДНК) разделяли с помощью капиллярного электрофореза с детекцией высокого разрешения на автоматическом генетическом анализаторе 3130 GeneticAnalyzer.

Алгоритм проведения генотипирования. В качестве материала использовали фекальные экстракты, ликвор, носоглоточные смывы, плазму крови. Выделение вирусной РНК из исследуемой пробы проводили с использованием коммерческих наборов реагентов, разрешенных к применению на территории РФ методом сорбции на силикагелевом носителе (набор реагентов "РИБО-сорб" Интерлабсервис, Москва) или методом сорбции на магнитной силике с ("Магно-сорб" Интерлабсервис, Москва). Суммарную РНК использовали в реакции обратной транскрипции для синтеза кДНК (набор реагентов, "РЕВЕРТА-L-100" Интерлабсервис, Москва). Выделенную кДНК применяли в качестве матрицы при постановке реакции "полувложенной" ПЦР.

Для проведения первого раунда "полувложенной" ПЦР готовили 25 мкл реакционной смеси, включающей: 2 ед. ДНК-полимеразы, 0,2mM смесь dNTP, 5 pmol праймера 5'TCCTCCGGCCCTGAATG3', 20 pmol праймера 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3', реакционный буфер (67 mM Трис-НСl (рН 8,3), 2,0 mM MgCl₂) и 10 мкл кДНК. ПЦР проводили по следующей схеме: 1 цикл - 95°C - 5 минут; 42 цикла – 95°C – 20 секунд, 55°C - 1,5 минуты, 72°C - 40 секунд; и заключительный цикл – 72°C - 5 минут.

Во втором раунде "полувложенной" ПЦР использовали аналогичную реакционную смесь с праймерами 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3' (5 pmol) и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3' (20 pmol), и добавляли 1 мкл амплификата, полученного в предыдущей реакции. Схема проведения второго раунда: 1 цикл – 95°C – 5 минут; 30 циклов – 95°C -20 секунд, 58°C - 1 минута, 72°C - 40 секунд; 1 цикл – 72°C – 5 минут. Для анализа продуктов амплификации использовали электрофорез в 2 % агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием (0,5 мг/мл) и детекцией в ультрафиолетовом трансиллюминаторе. Секвенирование ампликонов проводили по прямой и обратной последовательности с праймерами 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3' (для прямой последовательности) и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3' (для обратной последовательности) на автоматическом генетическом анализаторе 3130 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США), следуя рекомендациям производителя.

Выравнивание последовательностей нуклеотидов и аминокислот, а также филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ и статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы MEGA, версия 7 [168]. Генотипирование обнаруженных энтеровирусов проводили с помощью программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) методом сравнительного анализа последовательностей, полученных после секвенирования ампликонов, с последовательностями геномов энтеровирусов из международной базы генетических данных NCBI GenBank. Способ разработан и апробирован в лаборатории энтеральных вирусных инфекций ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора.

Аmplификацию и флуоресцентно-гибридизационную детекцию в режиме реального времени осуществляли на термоциклере для амплификации нуклеиновых кислот MyCycler Thermal Cycler (производитель Bio-Rad Life Science Group).

Из общего числа полученных последовательностей были отобраны и депонированы в международную базу данных GenBank 43 нуклеотидных последовательностей неполиомиелитных энтеровирусов: MK639188 – MK639230.

Филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ. Выравнивание последовательностей нуклеотидов, а также филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ проводили с использованием программного продукта MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets [168].

Вирусологические. Вирусологическими методами исследовались процессы влияния роданина, нистатина (ингибитора липидных плотов) на процесс интернализации близкородственных клонов вируса ЕСНО-11 имеющих различную рецепторную специфичность.

В работе использовали два клон эховируса 11 серотипа, относящегося к виду Enterovirus В рода Enterovirus семейства Picornaviridae порядка Picornavirales

[293]. Схема селекции 1 DAF (decay accelerating factor) – фактор, ускоряющий распад комплемента и биологические свойства гемагглютинирующего клона 431-1, использующего DAF в качестве первичного клеточного рецептора и негемагглютинирующего клона 431-6, отличающегося от клона 431-1 единственной аминокислотной заменой в капсидном белке VP2 (T165A) и использующего на клетках RD другой, не идентифицированный клеточный рецептор [217]. Пулы клонов, использовавшиеся для инокуляции культур клеток, являлись урожаем первого пассажа вирусов, полученных из материала бляшек. Идентичность клональных пулов была проверена прямым секвенированием структурной части генома, а их инфекционная активность определена методом бляшек под агаровым покрытием [49, 217]. Культуры клеток RD были получены из музея клеточных культур ФБУН «ЕНИИВИ» Роспотребнадзора. Клетки выращивали в культуральных пластиковых флаконах (Corning-Costar, США, кат. № 430639), площадь монослоя составляла 25 см^2 (3×10^7 клеток). В качестве среды роста использовали среду 199 «Игла» (ПанЭко, РФ, кат. № с210п) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (Biosera, Франция, FB-1001/500) и среду 199 без добавления сыворотки в качестве поддерживающей среды при репродукции вирусов. Схема экспериментов по одиночному циклу репродукции клонов эховируса 11 предусматривала следующие этапы. Для синхронизации начала инфекционного цикла, монослойные культуры клеток RD во флаконах, после замены среды роста на среду поддержания, охлаждали при температуре 4°C 20 минут. После удаления среды поддержания, во флаконы вносили по 400 мкл вирусосодержащей среды из расчета множественности заражения 10 БОЕ на клетку. Флаконы инкубировали на платформе покачивателя при 4°C 45 минут, затем тщательно удаляли инокулят и промывали монослой от несвязавшегося вируса трехкратно по 15 мл охлажденной до 4°C средой 199. Далее в каждый флакон добавляли по 5 мл среды 199 комнатной температуры и переносили флаконы в инкубатор для нагрева до 37°C . Через определенные интервалы времени флаконы подвергали трехкратному замораживанию (при -70°C) и оттаиванию (при 37°C) для лизиса клеток. Для солюбилизации липидов и белков

клеточных мембран, к 315 мкл аликвоты клеточного лизата в пластиковой пробирке добавляли 35 мкл 4 % (объем/объем) детергента Tween[®]80 (Sigma-Aldrich, Германия, кат. № P1754), встряхивали пробирку на вортексе и помещали на 30 минут в шейкер с частотой вращения 60 оборотов в минуту, затем центрифугировали 10 минут при 3000 g. Супернатант перед определением инфекционной активности разводили средой 199 в 100 раз для получения конечной концентрации детергента 0,004 % (в предварительных экспериментах данная концентрация была определена как нетоксичная для клеток RD по отсутствию визуальных признаков цитопатологии в течение трех суток). Роданин (Sigma-Aldrich, Германия, кат. №118192-25G) добавляли в среду 199 до конечной концентрации 100 мкг/мл. После удаления среды роста, в культуральные флаконы с монослоем клеток RD вносили по 10 мл среды 199 с роданином, инкубировали 40 минут при 37°C и 20 минут при 4°C. Дальнейшие этапы экспериментов с одиночным циклом репродукции вирусов до этапа замораживания проб проводили, как описано выше, но использовали среду 199 с добавлением роданина. Для контроля уровня неспецифической адсорбции вирусов на пластике использовали культуральные флаконы со средой поддержания и флаконы со средой роста без внесения клеток, которые инкубировали при 37°C в течение 3 суток. Данные флаконы проходили одинаковые с экспериментальными флаконами процедуры охлаждения, внесения вирусного инокулята, промывки, замораживания-оттаивания и обработки аликвот детергентом. Инфекционную активность вирусосодержащих жидкостей, полученных в экспериментах с одиночным циклом репродукции, определяли методом конечных разведений на культурах клеток RD, выращенных в 96-луночных планшетах (Corning-Costar, США, кат. № REF3598). Для определения инфекционного титра вируса, в лунки планшета с монослоем клеток RD вносили по 200 мкл разведений вируса (от 10⁻¹ до 10⁻⁹), используя не менее 8 реплик для каждого разведения. Планшеты с зараженными клетками помещали в CO₂-инкубатор при 37°C ежедневно оценивали степень деструкции монослоя с помощью инвертированного микроскопа. Окончательный учет результатов проводили на 5 день инкубации.

Инфекционную активность, выраженную в десятичных логарифмах величины 50 % тканевой цитопатогенной дозы в 200 мкл ($\lg TЦД_{50}/0,2$ мл), определяли по формуле Spearman-Kärber с расчетом стандартной ошибки [270]. Логарифм величины $TЦД_{50}$ при обычных условиях определения инфекционного титра вирусов методом конечных разведений имеет распределение, приближающееся к нормальному, что позволяет использовать для статистического анализа стандартные методы вариационной статистики [282]. Различия между величинами считали статистически достоверными при условии, что вероятность ошибки первого рода не превышала 0,05. Для подбора аппроксимирующих функций использовали программу Microsoft Excel 2010.

Для изучения влияния нистатина (ингибитора липидных плотов) на интенсивность интернализации близкородственных клонов вируса ЕСНО-11 с различной рецепторной специфичностью: взаимодействующего с первичным рецептором DAF (daf⁺) и не взаимодействующего с DAF (daf⁻) аналогично предыдущему эксперименту использовали перевиваемую линию клеток RD (клетки рабдомиосаркомы человека), Культуру клеток выращивали при 37°C в культуральных пластиковых 96-луночных планшетах и пластиковых культуральных флаконах площадью 25 см² (Corning-Costar, США), в течение 48 – 72 часов до образования плотного монослоя. В качестве модели были использованы два близкородственных daf⁺ и daf⁻ клона ЕСНО-11, полученные и охарактеризованные ранее (Novoselov A.V. et al., 2012). Капсидные белки daf⁺ клона 431-1, использующего DAF в качестве первичного клеточного рецептора и daf⁻ клона 431-6, использующего другой (не идентифицированный) клеточный рецептор, отличались единственной аминокислотной заменой в области сайта связывания с рецептором DAF. Инфекционную активность вирусосодержащих жидкостей оценивали методом конечных разведений (в $TЦД_{50}$).

Для синхронизации начала инфекционного цикла монослойные культуры клеток RD в виде плотного монослоя в культуральных флаконах, после замены среды роста на среду поддержания (среда 199 без добавления сыворотки), охлаждали 20 минут при температуре 4°C. Затем, после удаления среды

поддержания, во флаконы вносили по 400 мкл вирусосодержащей жидкости из расчета множественности заражения 10 БОЕ на клетку. Флаконы инкубировали на платформе покачивателя при 4°C в течение 45 минут, затем тщательно удаляли инокулят и отмывали монослой от несвязавшегося вируса охлажденной до 4°C средой поддержания (трехкратно по 15 мл.). Далее в каждый флакон добавляли по 5 мл среды поддержания комнатной температуры и нагревали в термостате до 37°C. Через заданные интервалы времени инфекционный цикл останавливали, замораживая флаконы при -70°C. При изучении динамики численности вирусной популяции в одиночном цикле репродукции, нистатин (Sigma-Aldrich, Германия) присутствовал в конечной концентрации 25 мкг/мл на всех этапах эксперимента в вирусосодержащей жидкости и в среде поддержания.

Испытание дезинфицирующих (антисептических) средств. Испытания растительных субстанций в качестве кандидатов дезинфекционных (антисептических) средств проводили в соответствии руководством Р 4.2. 2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности».

Для определения антимикробной активности субстанций использовали метод исследования бактерицидной активности ДС (субстанций), предназначенных для обеззараживания поверхностей.

Основные этапы:

1. Подготовка рабочего раствора субстанции.

Растворы для эксперимента доставлены в готовом виде (3 % раствор). Проведена оценка внешнего вида раствора (исключено выпадение осадка). Температура раствора в эксперименте плюс 20 градусов (+20°C).

2. Исследование и оценка результатов бактерицидной активности субстанций.

В качестве тест-поверхностей использовалась поверхности размером 10x10 см из гладких материалов, не впитывающих средство: кафельная плитка, стекло,

линолеум. В качестве тест-микроорганизмов использовали штамм бактерии *E.coli* (1257) и полиовирус 1 типа Sabin - LSc-2ab.

Перед контаминацией тест-культурами поверхности подвергли механической очистке – мойка водой с мылом и щеткой, затем они были протерты несколько раз стерильной салфеткой, увлажненной стерильной питьевой водой.

На высушенные поверхности, расположенные горизонтально, пипеткой наносили взвесь тест-микроорганизмов из расчета 0,5 мл 2 млрд. микробной взвеси на площадь в 100 см² и равномерно распределяли ее по поверхности стеклянным шпателем. Поверхности подсушивали (до полного высыхания) при температуре плюс 200°С и относительной влажности воздуха 50-60 %, затем обрабатывали тестируемым раствором (метод крупнокапельного орошения, доза 3 мл на поверхность 10x10 см). Контрольные поверхности обрабатывали стерильной питьевой водой аналогично опытными.

Оценку результатов проводили через 15 и 30 минут.

Контроль эффективности обеззараживания тест-поверхностей проводили следующим образом: марлевой салфеткой (размером 5x5 см²), смоченной в растворе нейтрализатора (ТВИН 80), протиралась тест-поверхность. Затем салфетку погружали в 10 мл этого же нейтрализатора, находящегося в пробирках. Время замачивания марлевой салфетки составило 10 минут при постоянном встряхивании. Полученную в объеме 0,2 мл жидкость наносили на чашку Петри с твердыми дифференциально-диагностическими питательными средами (для роста бактериальной микрофлоры) и в среду 199 с добавлением 10 % бычьей сыворотки (для роста вирусных штаммов).

Посевы выращивали в стандартном режиме инкубации. Учет результатов роста бактерий проводили в течение 2 суток путем подсчета количества выросших колоний, затем рассчитывали плотность контаминации 100 см² поверхности и % обеззараживания, принимая количество колоний, снятых с контрольных поверхностей, за 100 %. Для оценки роста полиовируса 1 типа Sabin

- LSc-2ab пользовались критериями степени деструкции монослоя клеток RD с помощью инвертированного микроскопа.

Критерий эффективности обеззараживания поверхностей – не менее 99,99 % гибели тест-штаммов.

Исследование бактерицидной и вирулицидной эффективности дезинфекции. Осуществляли в соответствии с п. 5.1., п.п. 5.1.3.5. «Р 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство» (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010). В качестве тест-культуры использовали тест-штамм *Staphylococcus aureus* (906) и полиовирус 1 типа *Sabin - LSc-2a*.

Оценку эффективности способа аэрозольной дезинфекции с использованием комплекта оборудования генератора аэрозоля (компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод длиной 5 м и малярный пистолет с форсункой, генерирующий аэрозоль размером 5-25 мкм) производительностью 30 мл в мин проводили путем нанесения (через технологические отверстия) на две площадки вентиляционных каналов (размером 10 см x 10 см) двух тестовых культур в разных экспериментах: для оценки бактерицидной активности - *Staphylococcus aureus* (штамм 906), для оценки вирулицидной активности - полиовирус 1 типа *Sabin - LSc-2ab*. Исследование и оценку результатов проводили выше описанными способами

Приготовление бактериальной суспензии тест-культуры Staphylococcus aureus (штамм 906). Требования к тест-культуре: должна иметь типичные биохимические, морфологические, тинкториальные, культуральные и ферментативные свойства, присущие данному виду, и обладать стандартной устойчивостью к эталонным дезинфицирующим средствам. Рабочую суспензию тест-культуры Staphylococcus aureus готовят из культуры данного тест-штамма, выращенного на мясопептонном агаре (МПА) при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18—24 ч. Для приготовления бактериальной взвеси культуру смывают с агара стерильной питьевой водой. Полученную взвесь фильтруют через ватно-марлевый фильтр и разводят стерильной питьевой водой до концентрации 2×10^9 клеток в 1 мл, соответствующей по мутности 20 единицам мутности отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-84-11 (20 МЕ).

Биологическую концентрацию тест-культуры определяют методом последовательных десятикратных разведений суспензии в стерильной питьевой воде с последующим высевом суспензии в чаши Петри с МПА. После инкубации проводят подсчет выросших колониеобразующих единиц (КОЕ) и определяют количество жизнеспособных бактерий в 1 мл суспензии.

Приготовление вирусной суспензии полиовируса 1 типа Sabin (LSc-2ab). Исходный вирус размножают в перевиваемой культуре клеток RD. Клеточный детрит удаляют центрифугированием при низких оборотах (1000 об/5 мин), получая вирусную суспензию (ВС). Минимальный титр ВС должен составлять 106,5 ТЦИД₅₀ зд/мл. Для подсчета ТЦИД₅₀ или LDW применяют метод полных кумулятивов Рида и Менча и метод определения «центральной величины» Кербера. После удаления разрушенных клеток центрифугированием полученную ВС используют в экспериментах.

2.3.4 Статистические

В работе использовали методы непараметрической статистики с оценкой статистической значимости различий показателей по критериям Манна-Уитни, Фишера, коэффициент корреляции Спирмена, χ -квадрат. Ряд статистических показателей для убедительности был также рассчитан методами параметрической статистики с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Выполняли регрессионный, корреляционный анализы, спектральный анализ Фурье.

Для оценки статистической значимости с использованием статистики χ -квадрат при оценке слабонасыщенных таблиц сопряжения признаков (ячейки со значениями < 5) пользовались методом рандомизационной техники Монте-Карло [137].

Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для расчёта стратифицированных доверительных интервалов при нескольких биномиальных пропорциях, позволяющих сравнивать частоты бинарных признаков, использовали метод Уилсона [286].

В качестве инструмента для статистических расчётов использовали программные продукты Microsoft Excel 2010 с надстройкой Power Query и STATISTICA (data analysis software system), version 10 (StatSoft Inc)».

ГЛАВА 3 ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ

3.1. Характеристика эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации

Система эпидемиологического надзора за ЭВНИ на государственном уровне введена в Российской Федерации в 2006 г. Мониторинг заболеваемости осуществляется на основе данных официальной статистики ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора и Референс-центра по мониторингу за энтеровирусной инфекцией ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора. Учету подлежат клинические случаи ЭВНИ в разрезе двух возрастных категорий - от 0 до 17 лет и от 18 лет и старше.

Многолетняя динамика. По данным официальной статистики заболеваемость ЭВНИ в РФ на протяжении 14 лет (2006 - 2019 гг.) характеризовалась неравномерным распределением по годам и выраженной тенденцией к росту (Рисунок 1).

Среднемноголетний уровень (СМУ) по официальным данным составил $7,25\text{‰}$ (СКО= $4,1\text{‰}$, медиана $5,9\text{‰}$, межквартильный интервал от $4,28\text{‰}$ до $9,82\text{‰}$) среднегодовой темп прироста 4,4 % (угол наклона линейного тренда 34°). Подъёмы заболеваемости зарегистрированы в 2009 году ($4,72\text{‰}$), в 2013 г. ($11,22\text{‰}$) и в 2017 г. ($16,32\text{‰}$), при этом каждый последующий подъём превышал предыдущий. Возникновение локальных

минимумов регистрировали в 2010 г. (2,91‰), в 2014 г. (6,35‰), 2015 г. (5,36‰).

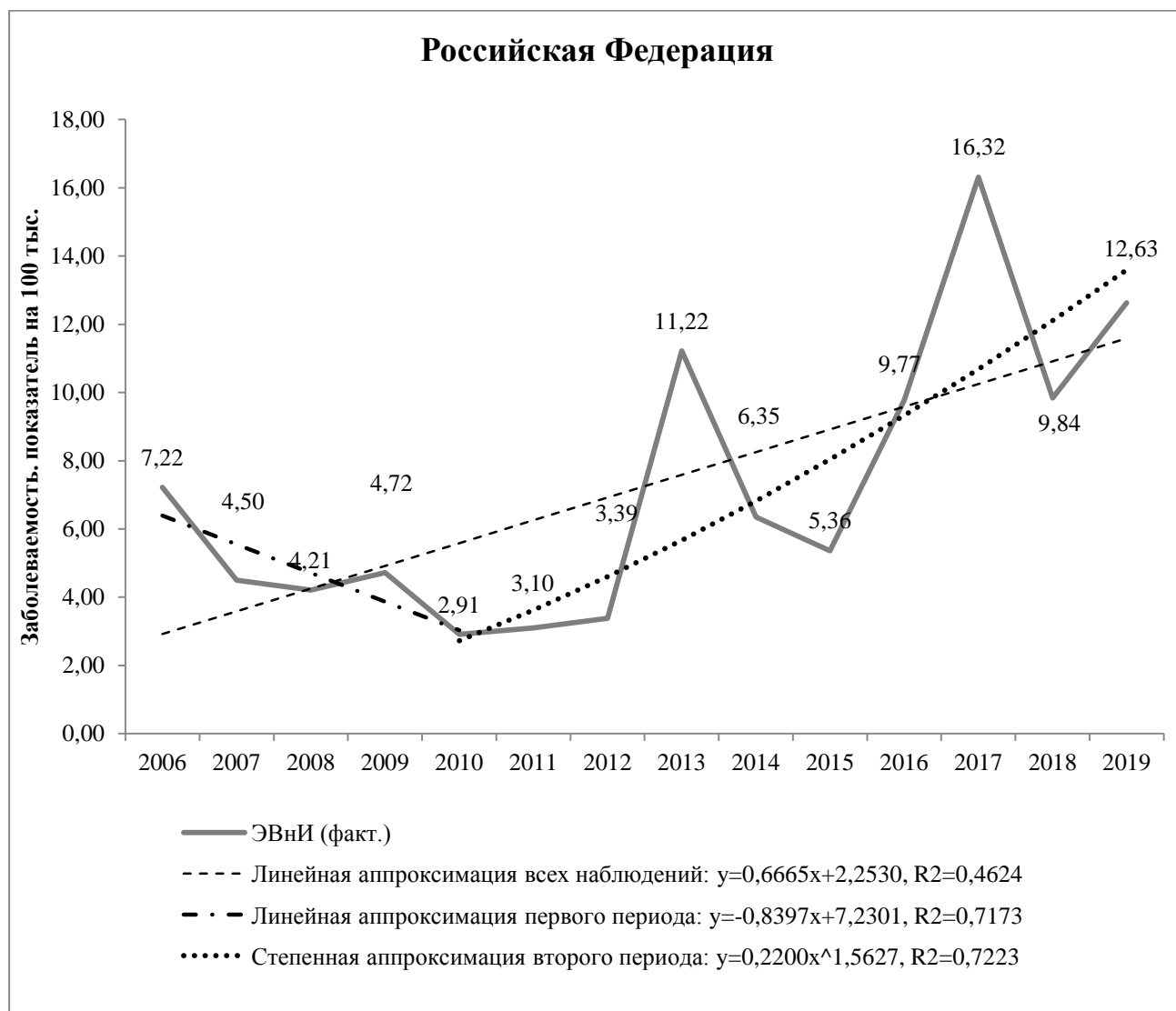


Рисунок 1. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

Использование стандартного эпидемиологического подхода к оценке заболеваемости для изучаемого периода времени свидетельствует о том, что применяемые математические модели (линейная, логарифмическая, степенная, экспоненциальная) неудовлетворительно аппроксимируются на данный временной ряд (Таблица 3) и свидетельствуют как минимум о двух периодах с разнонаправленными трендами.

Математические модели для изучения динамики заболеваемости
энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации
(2006 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация	$y=0,6665x+2,2530$	0,4624	10,3216	3,1292
Логарифмическая аппроксимация	$y=2,6436\ln(x)+2,4950$	0,2491	3,9807	3,6982
Степенная аппроксимация	$y=3,5140x^{0,3228}$	0,2027	3,0514	0,5158
Экспоненциальная аппроксимация	$y=3,2716e^{0,0870x}$	0,4298	9,0461	0,4362

Это обусловлено тем, что начиная с 2009 г. изменились подходы к регистрации случаев ЭВНИ в РФ, и с вступлением в силу МУ 3.1.1.2363-08 было предусмотрено обязательное лабораторное подтверждение диагноза для всех спорадических случаев. В результате улучшилось качество лабораторной диагностики.

Таким образом, более приемлемую математическую модель, достоверно определяющую направление и темп роста заболеваемости ЭВНИ, можно было получить, разбив временной ряд на два периода относительно минимального показателя (2010 г. - $2,91\text{‰}$). Первый период с 2006 по 2010 гг., второй период - с 2010 по 2019 гг. При этом временной отрезок с 2010 г. по 2019 г. наиболее оптимально соответствовал уровню заболеваемости по степенной аппроксимации (Таблица 4).

С учетом короткого (9 лет) периода наблюдения - 2010-2019 гг., более показательной величиной описательной статистики нами принята величина медианы заболеваемости, которая составила $6,35\text{‰}$ и межквартильный интервал (IQR), охвативший диапазон от $3,38\text{‰}$ до $9,84\text{‰}$.

Математические модели для изучения динамики заболеваемости
энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2010 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация	$y=1,1757x-3,0816$	0,6055	12,2809	3,0473
Логарифмическая аппроксимация	$y=10,4144\ln(x)-14,8374$	0,6054	12,2759	3,0477
Степенная аппроксимация	$y=0,2200x^{1,5627}$	0,7223	20,8058	0,3513
Экспоненциальная аппроксимация	$y=1,3230*e^{0,1732x}$	0,6966	18,3699	0,3671

Анализ заболеваемости с использованием данного подхода показал, что среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВНИ в РФ за изучаемый период составил $8,09\text{‰}$, среднегодовой темп прироста – 17,7 % (угол наклона линейного тренда 50°). В соответствии со степенной функцией развитие эпидемического процесса ЭВНИ в этом периоде характеризует его, как неуправляемый и предполагает неблагоприятный прогноз.

При сравнении показателей заболеваемости всего временного ряда (2006-2019 гг.) и временного ряда с 2010-2019 гг. – среднегодовой темп прироста (4,4 % против 17,7 %) и угол наклона линейного тренда (34° против 50°) имели статистически значимые отличия ($\chi^2=11,08$, d.f.=1, $p=0,0009$).

Цикличность. Для изучения периодичности во временном ряду заболеваемости ЭВНИ был применён спектральный анализ Фурье. Цель такого анализа - разложить комплексные временные ряды с циклическими компонентами на несколько основных синусоидальных функций с определенной длиной волн, для определения тех, появление которых особенно существенно и значимо. Спектральный анализ определяет корреляцию функций синусов и косинусов различной частоты с наблюдаемыми данными. Если найденная корреляция (коэффициент при определенном синусе или косинусе) велика, то можно

заключить, что существует строгая периодичность на соответствующей частоте в данных.

Функции синусов и косинусов независимы (или ортогональны); поэтому можно просуммировать квадраты коэффициентов для каждой частоты, чтобы вычислить периодограмму (Рисунок 2).



Рисунок 2. Периодограмма заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2009-2019 гг.).

Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Значения периодограммы можно интерпретировать как дисперсию (вариацию) данных на соответствующем периоде. Значения периодограммы (на оси ординат) вычисляются как:

$$P_k = \text{синус - коэффициент}_k^2 + \text{косинус - коэффициент}_k^2 * \frac{N}{2},$$

где P_k - значения периодограммы на частоте ν_k , и N - общая длина ряда. Для наглядности, частота на оси абсцисс преобразована в период: $T_k=1/\nu_k$. Расчёт коэффициентов производится путём построения модели линейной множественной регрессии, где зависимая переменная – наблюдаемый временной ряд, а независимые переменные или регрессоры: функции синусов всех возможных

(дискретных) частот. Наиболее эффективным решением данной задачи является алгоритм быстрого преобразования Фурье.

При изучении многолетнего уровня заболеваемости продолжительностью более 10 лет (2006-2019 гг.) спектральный анализ Фурье выявил 4-х летнюю цикличность. Локальные минимумы следовали после локальных максимумов также с периодичностью в 4 года.

Внутригодовая динамика. Заболеваемость ЭВНИ характеризовалась выраженной летне-осенней сезонностью (Рисунок 3).

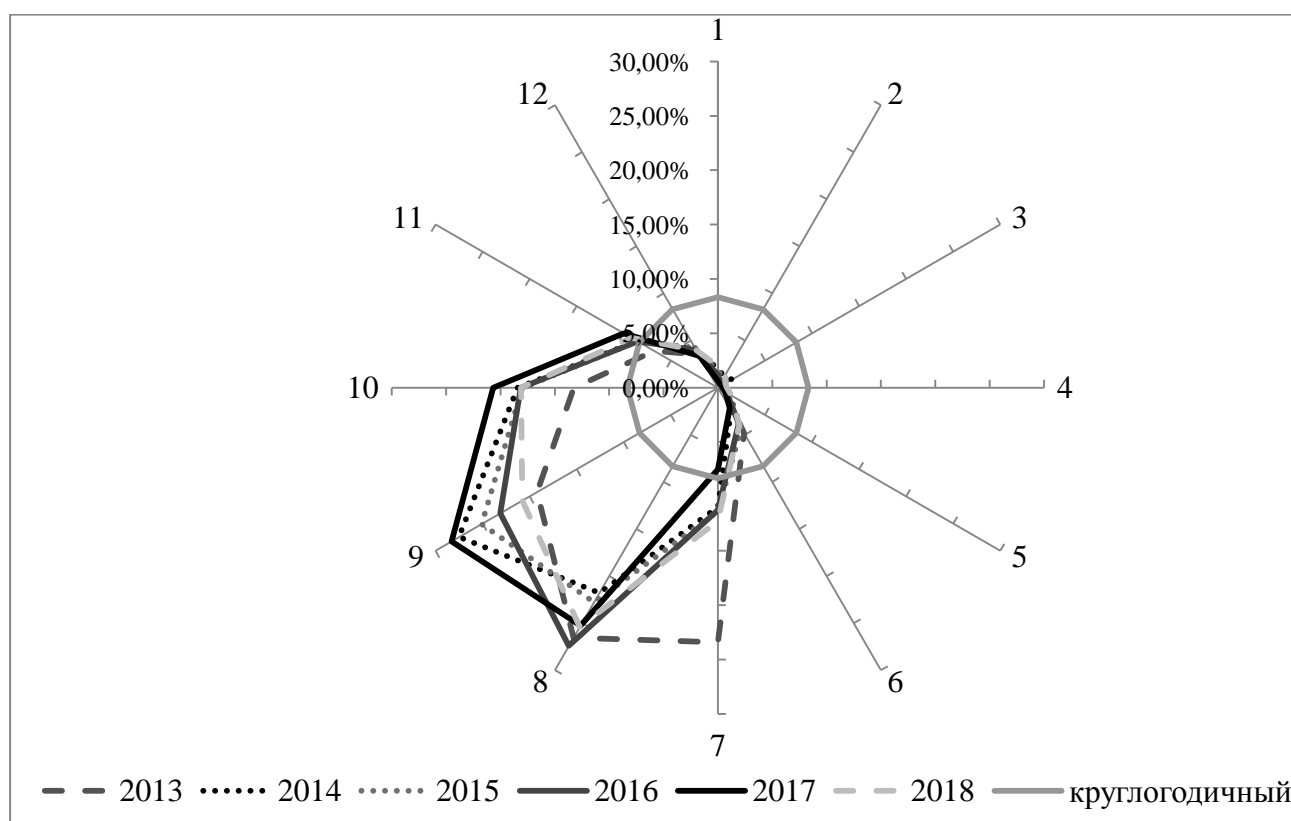


Рисунок 3. Внутригодовая динамика энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации, в долях от заболеваемости за год (2013-2018 гг.), в лучах линейно-круговой диаграммы месяцы с января (1) по декабрь (12).

Ежегодно сезонный подъем заболеваемости начинался в июле и заканчивался в ноябре.

По среднееголетним данным на сезонный период заболеваемости ЭВНИ (с июля по ноябрь) приходилось 89,5 % заболевших. Удельный вес заболевших за счет влияния сезонных факторов составил 82,0 %.

Ежегодно максимум заболеваемости приходился на август и сентябрь (Рисунок 4).

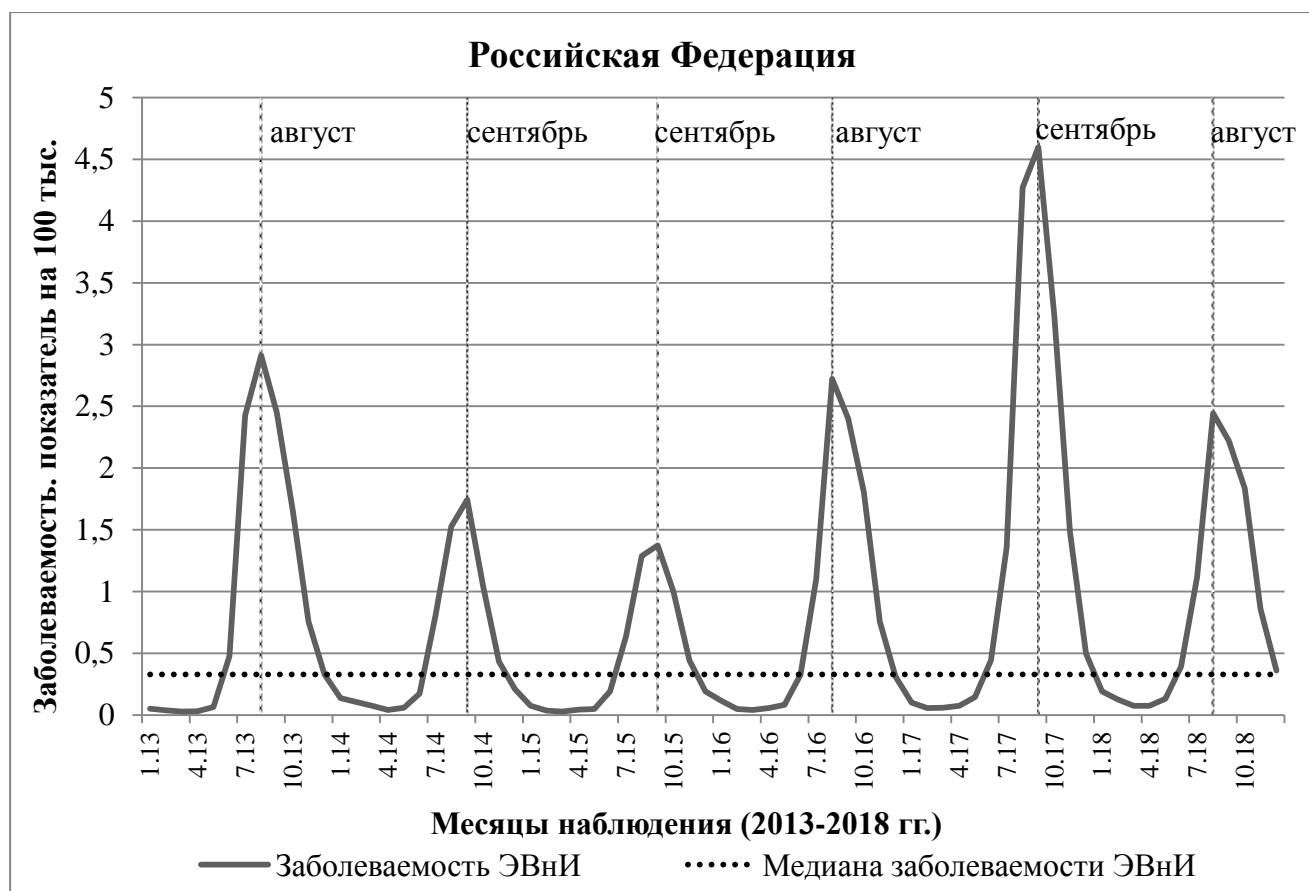


Рисунок 4. Годовая динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2013 - 2018 гг.), сл./100 тыс.

Спектральный одномерный анализ Фурье временного ряда месячной заболеваемости ЭВНИ в Российской Федерации с 2013 по 2018 гг. выявил ярко выраженную 12-ти месячную периодичность, что свидетельствует об отсутствии значительных сдвигов начала и окончания эпидемического подъёма (Рисунок 5), как это бывает, например, при гриппе.

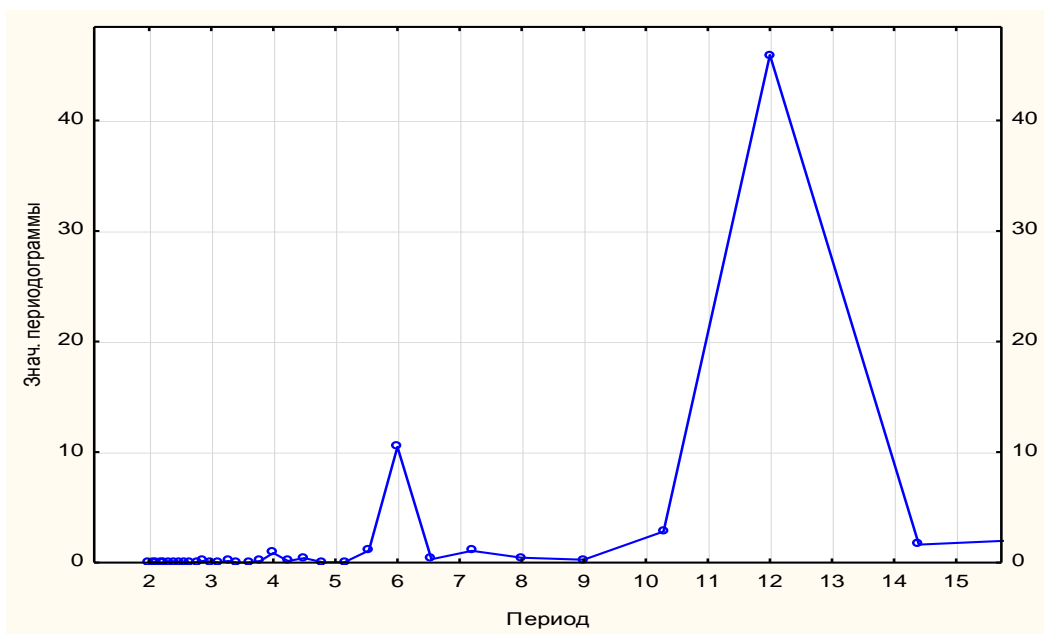


Рисунок 5. Периодограмма помесечной заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2013-2018 гг.).

Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Сезонная составляющая при классической сезонной декомпозиции данного временного ряда (метод Census I) как при аддитивной, так и при мультипликативной моделях демонстрирует ежегодное максимальное влияние сезонного фактора на увеличение показателя в июле, августе, сентябре и октябре (Таблица 5).

Таблица 5

Сезонные составляющие ежемесячной заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2013-2018 гг.)

Месяц	Сезонная составляющая при мультипликативной модели	Сезонная составляющая при аддитивной модели
январь	14,5887	-0,708005977
февраль	8,8814	-0,73590166
март	6,4100	-0,746689643
апрель	7,4807	-0,74039556
май	11,0901	-0,708328827
июнь	39,1541	-0,498259943
июль	143,0773	0,413094759
август	307,2373	1,71443414
сентябрь	314,4177	1,68170537
октябрь	216,7095	0,913272973
ноябрь	92,1674	-0,05959021
декабрь	38,7857	-0,525335427

В мультипликативной модели среднее значение сезонной составляющей равно 100, поэтому значения >100 указывают на периоды, в которые стабильно наблюдаются наибольшие значения наблюдаемого показателя. В аддитивной модели сумма значений сезонной составляющей равна 0, поэтому значения >0 также указывают на месяцы сезонного подъёма заболеваемости.

Найденная периодичность является универсальной по отношению ко всему временному ряду, но при этом каждый год может иметь индивидуальные особенности начала и окончания сезонного эпидемического подъёма заболеваемости, поэтому были рассчитаны эпидемические пороги в соответствии с МР 3.1.2.0118-17. Профилактика инфекционных болезней. Инфекции дыхательных путей. Методика расчета эпидемических порогов по гриппу и острым респираторным вирусным инфекциям по субъектам Российской Федерации».

Для расчёта эпидемических порогов для наблюдаемых периодов используются ретроспективные значения вне сезонных эпидемических подъёмов заболеваемости. В МР 3.1.2.0118-17. 3.1.2. отсутствует методика определения таких периодов. Был выбран способ первичного разделения временных периодов по уровню заболеваемости на круглогодичную заболеваемость и сезонные подъёмы по медиане всего массива данных. Данный способ широко распространён в практике анализа временных рядов заболеваемости проводимого, Всемирной организацией здравоохранения. На медиану, в отличие от других средних величин (среднее арифметическое, среднее геометрическое, среднее гармоническое) не оказывает существенного влияния пик уровня заболеваемости.

Произведя расчёт верхних толерантных пределов по значениям ежемесячной заболеваемости, не превышающим медиану, рассчитанную по всем месяцам с 2013 по 2018 гг., получили данные по эпидемическим порогам для каждого месяца (Таблица 6).

Величина эпидемического порога с января по май не превышало $0,443\%_{0000}$. Минимальное значение приходилось на апрель - $0,178\%_{0000}$. В июне показатель был максимальным и составил $0,575\%_{0000}$.

Уровень заболеваемости в ноябре на протяжении всего периода наблюдения превышал не только общее медианное значение, но и в 4-х случаях из 6-ти – максимальный эпидемический порог. В связи с этим, ноябрь следует включать в число месяцев сезонного подъёма заболеваемости, несмотря на низкие значения его сезонной составляющей.

Таблица 6

Эпидемические пороги заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией, рассчитанные по данным ежемесячной заболеваемости в Российской Федерации в 2013-2018 гг.

Месяц	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Средне- месячный уровень	Верхний толерантный предел	Медиана
январь	0,052	0,138	0,074	0,117	0,101	0,192	0,112		0,10937
февраль	0,038	0,106	0,037	0,049	0,057	0,126	0,069		0,05281
март	0,03	0,077	0,029	0,042	0,059	0,075	0,052		0,05076
апрель	0,031	0,041	0,045	0,058	0,076	0,075	0,054		0,052
май	0,064	0,061	0,049	0,083	0,144	0,132	0,089		0,074
июнь	0,476	0,173	0,192	0,327	0,443	0,394	0,334		0,36
июль	2,426	0,808	0,637	1,1	1,356	1,118	1,241		1,109
август	2,913	1,528	1,288	2,722	4,271	2,444	2,528		2,583
сентябрь	2,449	1,744	1,374	2,4	4,598	2,222	2,465		2,311
октябрь	1,654	1,036	1,001	1,805	3,231	1,834	1,76		1,729
ноябрь	0,757	0,432	0,443	0,753	1,481	0,862	0,788		0,755
декабрь	0,33	0,21	0,193	0,312	0,498	0,361	0,317		0,321
Помесячная заболеваемость с порогом по медиане всего массива данных:							Медиана (все месяцы, 2013-2018)		0,328
январь	0,052	0,138	0,074	0,117	0,101	0,192		0,443	
февраль	0,038	0,106	0,037	0,049	0,057	0,126		0,322	
март	0,03	0,077	0,029	0,042	0,059	0,075		0,195	
апрель	0,031	0,041	0,045	0,058	0,076	0,075		0,178	
май	0,064	0,061	0,049	0,083	0,144	0,132		0,355	

Окончание Таблицы 6

Месяц	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Средне- месячный уровень	Верхний толерантный предел	Медиана
июнь	э	0,173	0,192	0,327	э	э		0,575	
июль	э	э	э	э	э	э			
август	э	э	э	э	э	э			
сентябрь	э	э	э	э	э	э			
октябрь	э	э	э	э	э	э			
ноябрь	э	0,432	0,443	э	э	э			
декабрь	э	0,21	0,193	0,312	э	э		0,503	

Очаговость. В соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 4 февраля 2016 г. №1 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера» в качестве очагов групповой заболеваемости регистрировались:

- заболевания ЭВНИ (серозный вирусный менингитом, энтеровирусная инфекция герпетических, ангинозных и других форм) среди населения в количестве 15 и более случаев, возникших в пределах одного инкубационного периода на одной территории;

- заболевания ЭВНИ среди членов одного организованного коллектива взрослых в количестве 10 и более случаев;

- заболевания ЭВНИ в образовательных учреждениях, в медицинских организациях, учреждениях отдыха и оздоровления: в количестве 3 и более случаев. В связи с этим, к очагам групповой заболеваемости были отнесены заболевания в пределах инкубационного периода с числом случаев не менее 3-х.

Из 128 820 случаев ЭВНИ, зарегистрированных с 2006 по 2018 гг. число пострадавших в очагах групповой заболеваемости с 3 и более случаями (492 очага) составило 9845 или 7,6 %. Средний показатель заболеваемости в таких очагах соответствовал $0,52\text{‰}$, максимальный - в 2017 году ($1,66\text{‰}$), минимальный – в 2012 ($0,13\text{‰}$). (Рисунок 6).

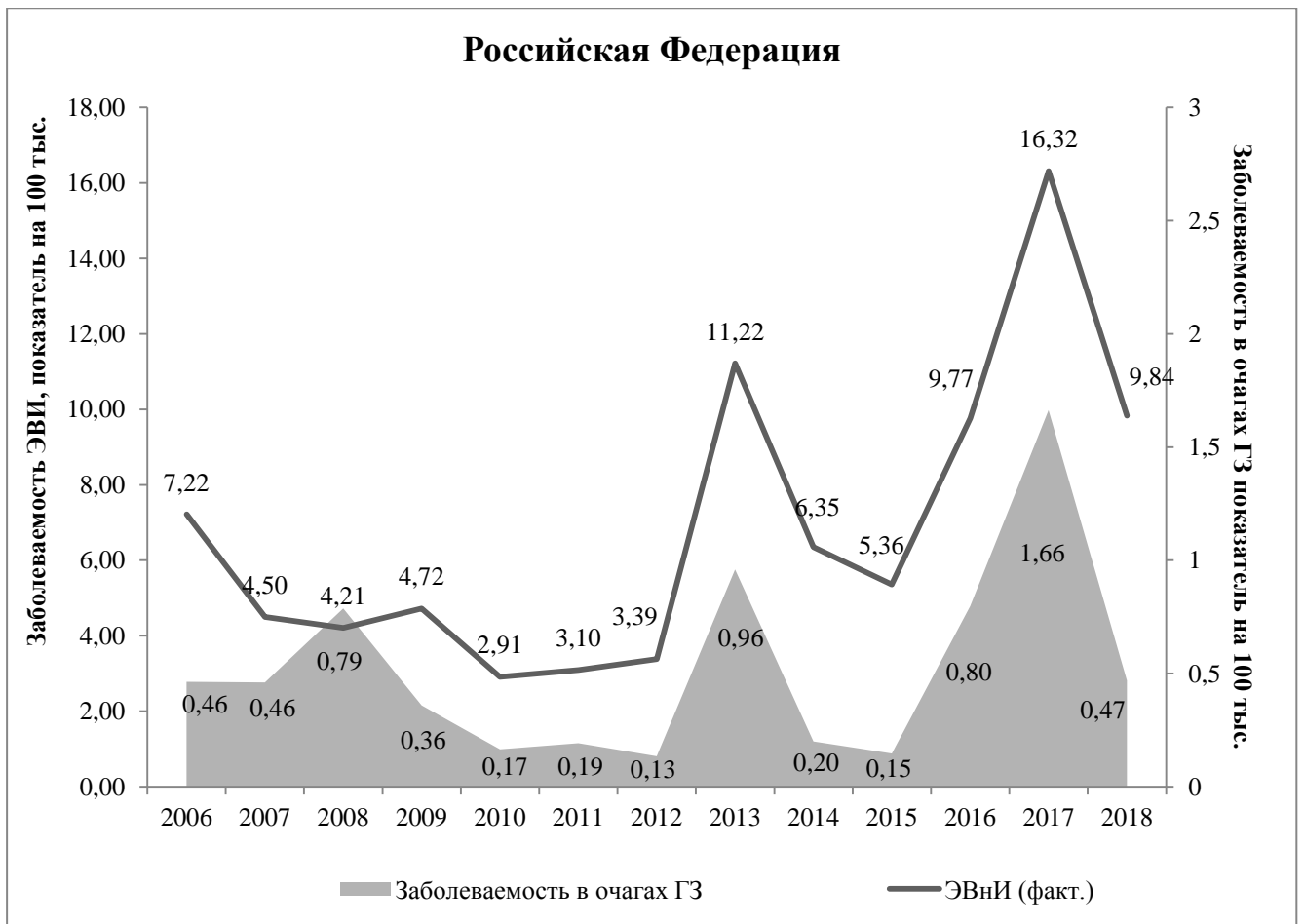


Рисунок 6. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в целом и заболеваемость, обусловленная очагами с 3-мя и более случаями в Российской Федерации (2006 - 2018 гг.), сл./100 тыс.

Временной ряд в очагах групповой заболеваемости был стационарным (U-тест: $U=11$, $p=0,1747$) и не имел выраженных тенденций к росту или снижению, однако многолетняя кривая групповой заболеваемости коррелировала с кривой заболеваемости ЭВНИ в целом ($R= 0,857763$, $p= 0,00017$), что свидетельствует о существенном влиянии групповой заболеваемости на формирование эпидемического неблагополучия. Неравномерным распределением по годам характеризовался показатель общей очаговости (Рисунок 7).

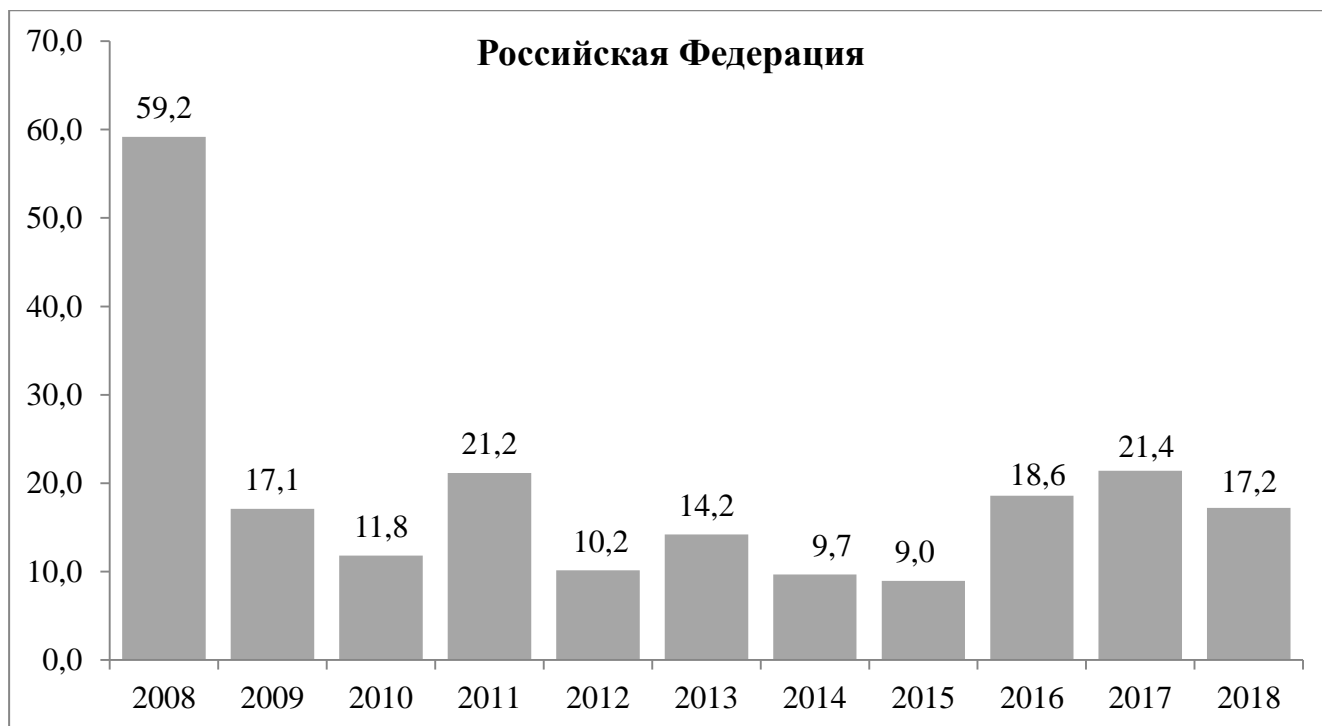


Рисунок 7. Интенсивность эпидемических очагов энтеровирусной (неполио) инфекции с 3-мя и более случаями в Российской Федерации в 2006-2018 гг. (показатель общей очаговости).

Среднемноголетний показатель составил 20,01 с колебаниями от 9,0 (2015 г.) до 59,2 (2008 г.). Несмотря на отсутствие корреляционной связи показателя общей очаговости с показателем заболеваемости в целом (коэффициент корреляции Пирсона составил -0,10), нами обнаружена сильная прямая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена составил $R_s=0,813$, при $p=0,0007$) с показателем доли лиц, вовлеченных в эпидемический процесс относительно общего количества случаев ЭВНИ. Это свидетельствует о значимости очагов групповой заболеваемости как индикатора интенсивности эпидемического процесса ЭВНИ, учитывая что доля пострадавших лиц в очагах групповой заболеваемости в структуре заболевших ЭВНИ была невелика и составила 7,6 %.

Возрастная структура. Основной группой риска по развитию ЭВНИ были дети, на долю которых приходилось 89,0 % от числа заболевших. Среднемноголетний уровень заболеваемости составил $70,83\text{‰}$, медиана -

70,62‰ с межквартильным размахом от 33,55‰ до 96,98‰. Среднегодовой темп прироста -18,7 %.

Максимальный показатель заболеваемости у детей, как и показатель в общей популяции, отмечен в 2017 г. (142,12‰), что в 8,7 раз превышало уровень заболеваемости ЭВНИ среди всего населения (16,32‰). Минимальный показатель в 2010 г. (23,68‰) также превысил среднероссийский (2,91‰) в 8,1 раз.

Заболеваемость среди взрослого населения была существенно ниже (Рисунок 8).

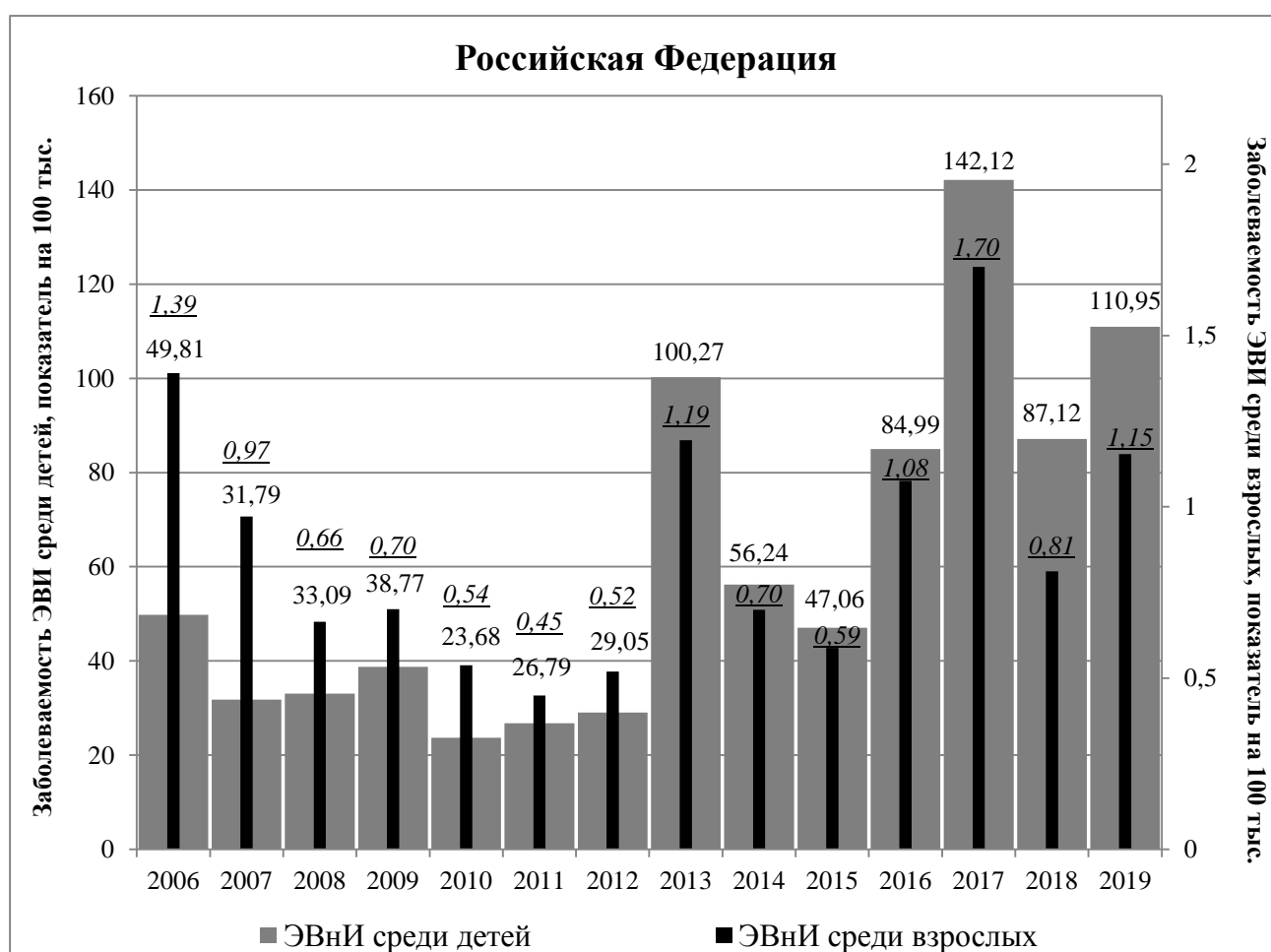


Рисунок 8 Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией среди детей и взрослых в Российской Федерации (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

Среднемноголетний уровень заболеваемости среди взрослых составил 0,87‰, медиана - 0,76‰, межквартильный размах от 0,55‰ до 1,13‰.

Среднегодовой темп прироста – 8,9 %. Относительный риск возникновения ЭВНИ у детей был в 66,4 раз выше, чем у взрослых (RR= 66,392, 95 % ДИ от 62,393 до 70,646).

Общая тенденция заболеваемости ЭВНИ среди взрослого населения не имела отличий от общей тенденции среди детей. Динамические ряды помесечной динамики заболеваемости ЭВНИ среди детей и взрослых также имели тесную корреляционную связь ($k=0,97$). Однако отмечена непропорциональность колебаний показателей, что вместе с их когерентностью свидетельствовало о разной силе действия на эпидемический процесс общих факторов в двух возрастных группах населения. Максимальный показатель заболеваемости у взрослых в 2017 г. ($1,70^{\circ}/0000$), был в 9,6 раз ($16,32^{\circ}/0000$) ниже общего показателя заболеваемости и в 83,6 ($142,12^{\circ}/0000$) аналогичного показателя среди детского населения.

Низкий уровень заболеваемости ЭВНИ у взрослых, был, вероятно, связан с невосприимчивостью старшего поколения к инфекции вследствие ранней встречаемости с НПЭВ (в детстве), а также преобладанием в структуре легких форм ЭВИ и, как следствие, низкой обращаемостью лиц старше 18 лет за медицинской помощью. Это обусловило более выраженную тенденцию к снижению доли заболевших лиц среди взрослых к 2019 г. (Рисунок 9).



Рисунок 9. Возрастная структура заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2006-2018 гг.)

Фактором риска регистрации ЭВНИ среди взрослого населения также могла быть низкая настороженность врачей амбулаторно-поликлинического звена в отношении инфекции и отсутствие в стандартах оказания медицинской помощи безусловного и вероятного определения случая ЭВНИ.

Пик заболеваемости ЭВНИ в обеих возрастных группах приходился на август-сентябрь. Однако, график помесечной динамики заболеваемости (Рисунок 10) свидетельствует о превышении порогового уровня среди детей на 1-2 месяца раньше, чем среди взрослых и о его снижении на 1-2 месяца позднее.

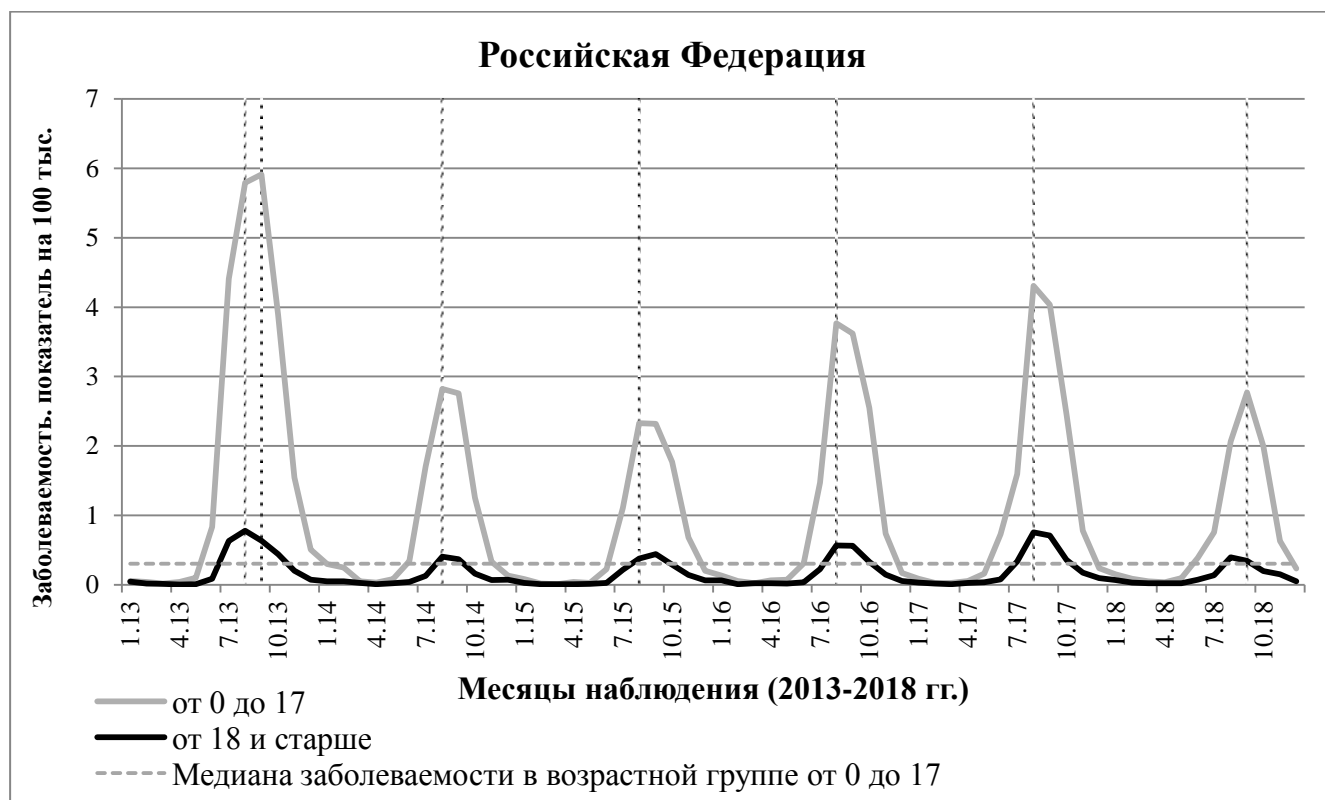


Рисунок 10. Помесечная динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией среди детского и взрослого населения в Российской Федерации (2013 - 2018 г.), сл./100 тыс.

Минимальные уровни заболеваемости ЭВНИ среди детей ежегодно регистрировали с февраля по апрель, среди взрослых - с марта по май. Исключением явились наиболее благополучные годы данного периода (2014 и 2015 гг.), когда рост заболеваемости среди взрослых и детей начался одновременно.

Таким образом, одним из прогностических признаков эпидемического неблагополучия по ЭВНИ на территории можно рассматривать опережающее (на 1 месяц) вовлечение в эпидемический процесс детей относительно взрослого населения.

Заболееваемость энтеровирусным менингитом. Одной из тяжелых клинических форм ЭВНИ является энтеровирусный менингит (ЭВМ). Именно эта нозология подлежит отдельной регистрации в формах официальной статистической отчетности.

В структуре заболеваемости ЭВНИ, по данным за период с 2006 по 2018 год, ЭВМ составил 26,29 % в общей популяции, 25,98 % среди детей, 28,64 % среди взрослых (Рисунок 11).



Рисунок 11. Доля энтеровирусного менингита в структуре клинических форм энтеровирусной (неполио) инфекции (в %) в Российской Федерации (2006-2018 гг.).

СМУ заболеваемости ЭВМ за изучаемый период времени соответствовал $2,50^{\circ}/_{0000}$, медиана - $2,22^{\circ}/_{0000}$, межквартильный интервал от $1,78^{\circ}/_{0000}$ до $2,97^{\circ}/_{0000}$, среднегодовой темп снижения – 0,3 %. Пик заболеваемости пришелся на 2013 г. ($5,00^{\circ}/_{0000}$) в отличие от показателей общей заболеваемости (2017 г. – $16,32^{\circ}/_{0000}$). Временной ряд, в отличие от временного ряда общей заболеваемости, был стационарным (U-тест сравнения равных частей временного ряда не выявил статистически значимых различий, критерий Манна-Уитни $U=9$, $p=0,1004$), что

также свидетельствовало об отсутствии выраженных долговременных тенденций к росту или снижению (Рисунок 12).

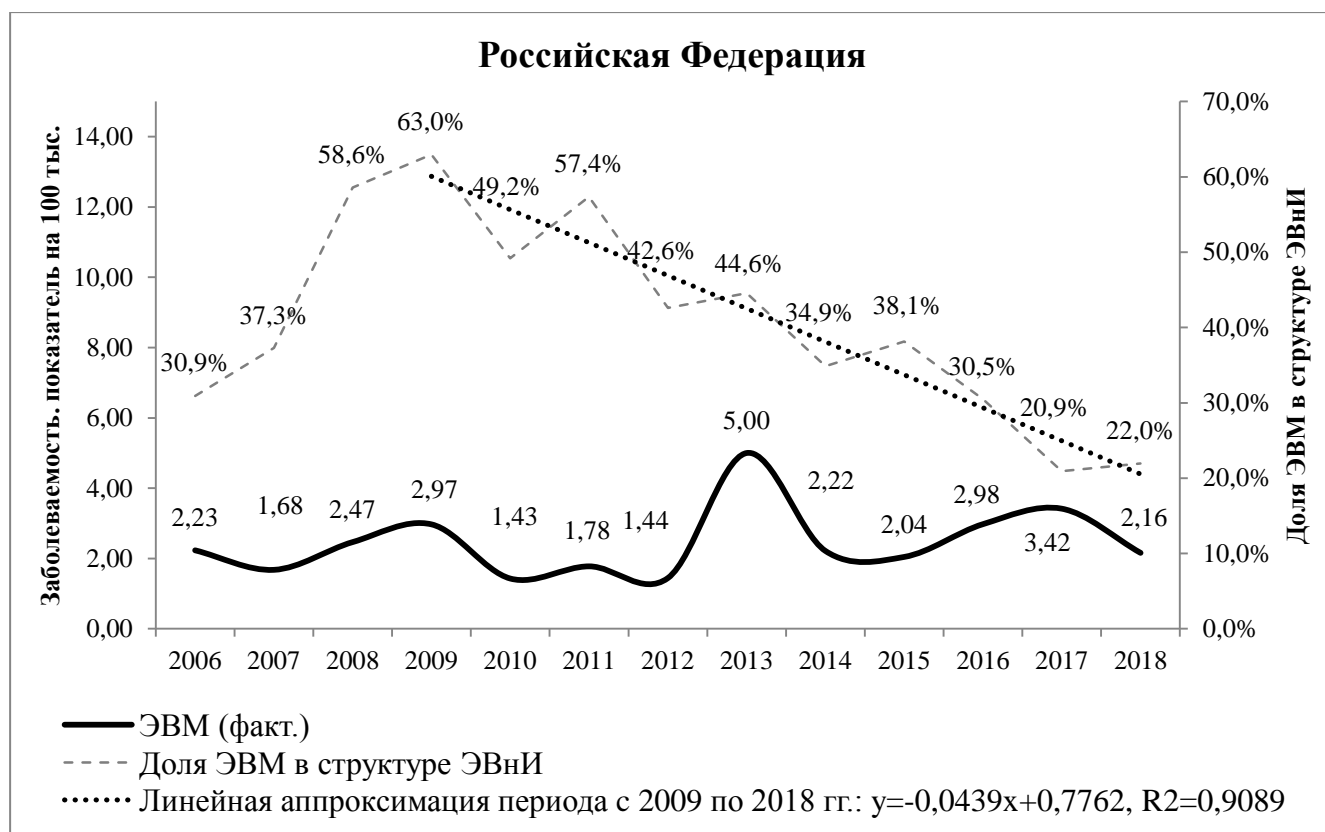


Рисунок 12. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом (сл./100 тыс.) и доли лиц с энтеровирусным менингитом в общей структуре заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией (в %) в Российской Федерации (2006-2018 гг.)

Локальные минимумы выявлены в те же временные промежутки, как при анализе общей заболеваемости: в 2010 г. (1,43°/0000), в 2014-2015 гг. (2,22-2,04°/0000) и в 2018 г. (2,16°/0000). Обращает внимание рост уровня локальных минимумов, что даёт повод прогнозировать рост заболеваемости ЭВМ в среднесрочной перспективе. Данная закономерность позволяет сделать вывод о влиянии на заболеваемость ЭВНИ и ЭВМ общих факторов.

Для определения тенденции развития эпидемического процесса ЭВМ была предпринята попытка провести линейную, степенную, логарифмическую и экспоненциальную аппроксимацию с использованием метода наименьших квадратов (Таблица 7).

Математические модели для изучения динамики заболеваемости энтеровирусным менингитом в Российской Федерации (2006 - 2018 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация	$y=0,0677x+1,9735$	0,0728	0,8639	0,9823
Логарифмическая аппроксимация	$y=0,2193\ln(x)+1,9108$	0,0692	0,8175	0,6430
Степенная аппроксимация	$y=0,6412x^{0,0872}$	0,0552	0,6429	0,2883
Экспоненциальная аппроксимация	$y=1,8664*e^{0,0241x}$	0,1089	1,3437	0,2800

Показатели, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что на уровень заболеваемости ЭВМ изменение подходов к регистрации ЭВНИ (в 2009 г.) не оказало существенного влияния, поэтому разбивка временного ряда на 2 периода, как в случае с изучением общей заболеваемости ЭВНИ, была нецелесообразной. Вместе с тем, начиная с 2009 года, доля ЭВМ в структуре ЭВНИ стремительно уменьшалась, с 63 % - в 2009 году до 22 % - в 2018 году. Этот период времени характеризовался ярко выраженным линейным трендом со среднегодовым темпом снижения 11 %. Коэффициент детерминации линейной аппроксимации составил $R^2=0,9$, среднегодовой темп снижения - 89 %.

Снижение доли ЭВМ в структуре ЭВНИ, вероятнее всего, было связано с качеством лабораторной диагностики, обусловленной увеличением регистрации «малых» клинических форм ЭВНИ, в их числе, энтеровирусный везикулярный стоматит с экзантемой (код по МКБ-10 - B08.4); энтеровирусный везикулярный фарингит или герпетическая ангина (B08.5); энтеровирусная экзантематозная лихорадка (A88.0) и др.

Цикличность. Как и в случае с общей заболеваемостью ЭВНИ, динамика заболеваемости ЭВМ обладала выраженной цикличностью (Рисунок 12).

Нами установлена периодичность подъёма заболеваемости ЭВМ каждые 4 года (Рисунок 13) в 2009 г. – $2,97\%_{0000}$, в 2013 г. – $5,0\%_{0000}$ и в 2017 г. – $3,42\%_{0000}$.



Рисунок 13. Периодограмма заболеваемости энтеровирусным менингитом в Российской Федерации (2009-2018 гг.).

Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Сезонные эпидемические подъёмы при ЭВМ начинались одновременно с другими клиническими формами ЭВНИ, однако заканчивались в большинстве случаев на месяц раньше (Рисунок 14). Пик заболеваемости ежегодно приходился на август или сентябрь.

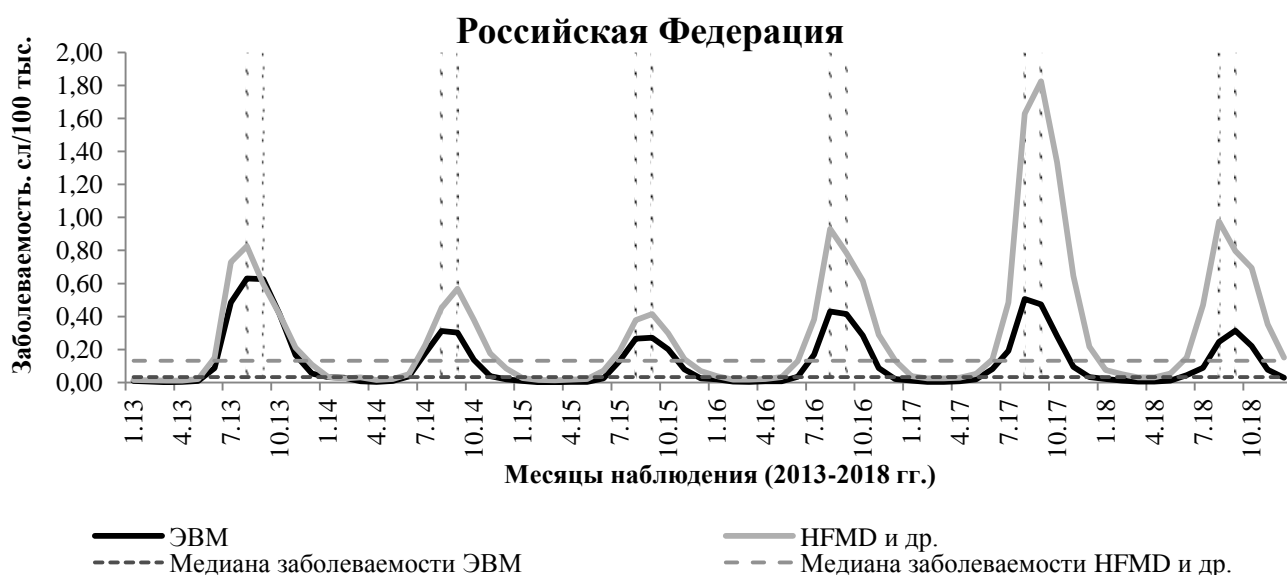


Рисунок 14. Помесячная динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом и другими клиническими формами энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации (2013 - 2018 гг.), сл./100 тыс.

В последние 3 года наблюдения (2016-2018 гг.) число заболевших лиц другими клиническими формами ЭВНИ в период эпидемического подъёма (август-октябрь) значительно превышало количество заболевших ЭВМ: в 2016 году - в 2,06 раза, в 2017 году - в 3,79 раза, в 2018 году - в 3,15 раза (Таблица 8).

Таблица 8

Эпидемические подъёмы заболеваемости энтеровирусным менингитом и прочими клиническими формами энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации (2013 - 2018 гг.)

Год	ЭВМ в эпид. подъём	HFMD и др. в эпид. подъём	Соотношение HFMD и др. и ЭВМ	ЭВМ за весь год	HFMD и др. за весь год	Доля на эпид. подъём ЭВМ	Доля на эпид. подъём HFMD и др.
2013	4801	5268	1,1	7176	8925	67 %	59 %
2014	2183	4062	1,86	3212	5999	68 %	68 %
2015	2164	3198	1,48	2994	4856	72 %	66 %
2016	3318	6842	2,06	4367	9962	76 %	69 %
2017	3706	14063	3,79	5018	18941	74 %	74 %
2018	2297	7247	3,15	3171	11270	72 %	64 %

Доля случаев ЭВМ, зарегистрированных в период эпидемического подъёма, составляла в среднем 71 % от всех заболевших, при этом из года в год изменения происходили в пределах 5 % относительно средней величины сезонного подъёма.

Спектральный одномерный анализ Фурье временного ряда месячной заболеваемости ЭВМ в Российской Федерации с 2013 по 2018 гг. выявил ярко выраженную 12-ти месячную периодичность (Рисунок 15).

Классическая сезонная декомпозиция временного ряда заболеваемости ЭВМ в Российской Федерации с 2013 по 2018 гг. продемонстрировала выраженную сезонность эпидемического процесса и максимальное ежегодное влияние на заболеваемость сезонного фактора в июле, августе, сентябре и октябре (Таблица 9).

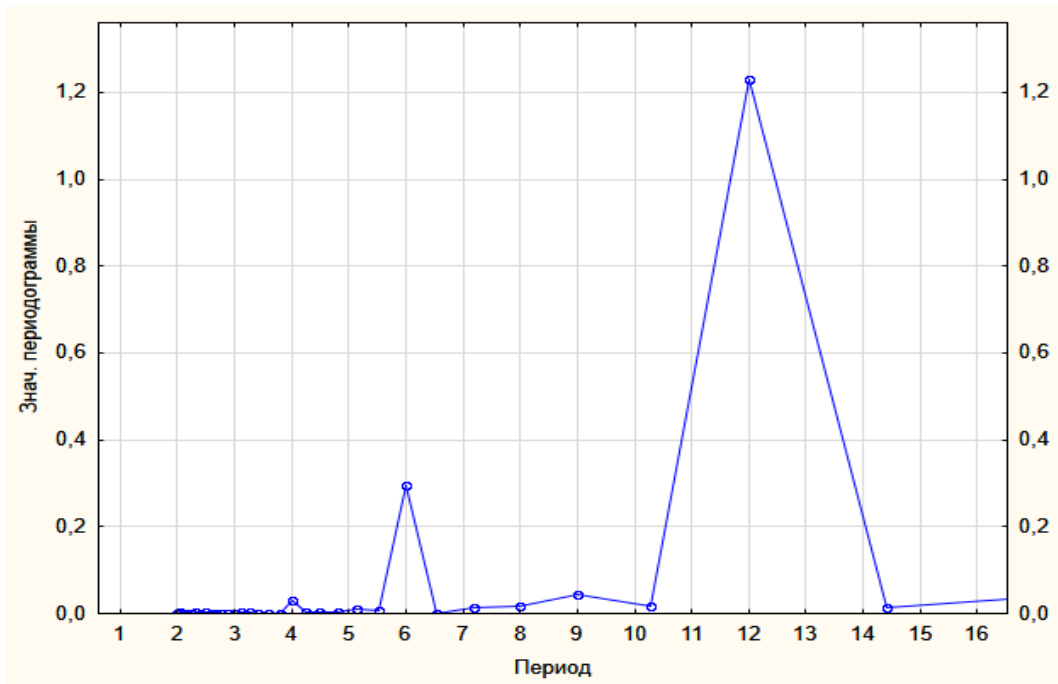


Рисунок 15. Периодограмма помесечной заболеваемости энтеровирусным менингитом в Российской Федерации (2013-2018 гг.).

Прим.: ось OX: периодичность в годах, ось OY: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Таблица 9

Сезонные составляющие ежемесячной заболеваемости энтеровирусным менингитом в Российской Федерации (2013-2018 гг.)

Месяц	Сезонная составляющая при мультипликативной модели	Сезонная составляющая при аддитивной модели
январь	14,4865	-0,116237684
февраль	6,1533	-0,118248034
март	3,6867	-0,117753284
апрель	5,6902	-0,111177817
май	9,6473	-0,1032484
июнь	39,3812	-0,068094151
июль	153,9473	0,077953955
август	335,2816	0,293245683
сентябрь	327,5568	0,282140833
октябрь	208,0583	0,128410766
ноябрь	72,1318	-0,042127551
декабрь	23,9789	-0,104864317

Указанные 4 месяца точно соответствуют ежегодному периоду сезонного подъёма заболеваемости другими клиническими формами ЭВНИ, что

свидетельствует о влиянии общих факторов на циркуляцию различных видов и субтипов НПЭВ.

Эпидемический порог заболеваемости ЭВМ в период с января по май не превышал $0,017\text{‰}$, в декабре был максимальным и составил $0,026\text{‰}$. (Таблица 10).

Таблица 10

Эпидемические пороги заболеваемости энтеровирусным менингитом, рассчитанные по данным ежемесячной заболеваемости в Российской Федерации в 2013-2018 гг.

Месяц	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Средне- месячный уровень	Верхний толерантный предел	Медиана
январь	0,009	0,033	0,011	0,0187	0,012	0,021	0,017	0,078	0,01516
февраль	0,006	0,029	0,002	0,0061	0,004	0,012	0,01	0,075	0,00586
март	0,003	0,007	0,001	0,0041	0,003	0,007	0,004	0,019	0,00375
апрель	0,004	0,004	0,004	0,0082	0,008	0,005	0,006	0,019	0,005
май	0,01	0,01	0,004	0,0089	0,019	0,012	0,011	0,045	0,01
июнь	0,088	0,037	0,025	0,0341	0,081	0,046	0,052	0,227	0,041
июль	0,485	0,177	0,13	0,1681	0,192	0,089	0,207	1,149	0,172
август	0,631	0,313	0,266	0,4302	0,506	0,246	0,399	1,41	0,372
сентябрь	0,627	0,303	0,271	0,4149	0,474	0,314	0,401	1,3	0,364
октябрь	0,415	0,137	0,202	0,286	0,282	0,222	0,257	0,891	0,252
ноябрь	0,168	0,039	0,081	0,0876	0,095	0,078	0,091	0,373	0,084
декабрь	0,055	0,02	0,026	0,0218	0,033	0,028	0,031	0,117	0,027
Помесячная заболеваемость с порогом по медиане всего массива данных:							Медиана (все месяца 2013-2018) 0,0338		
январь	0,009	0,033	0,011	0,0187	0,012	0,021	0,017	0,078	
февраль	0,006	0,029	0,002	0,0061	0,004	0,012	0,01	0,075	
март	0,003	0,007	0,001	0,0041	0,003	0,007	0,004	0,019	
апрель	0,004	0,004	0,004	0,0082	0,008	0,005	0,006	0,019	
май	0,01	0,01	0,004	0,0089	0,019	0,012	0,011	0,045	
июнь	э	э	0,025	э	э	э			
июль	э	э	э	э	э	э			
август	э	э	э	э	э	э			
сентябрь	э	э	э	э	э	э			
октябрь	э	э	э	э	э	э			
ноябрь	э	э	э	э	э	э			
декабрь	э	0,02	0,026	0,0218	0,033	0,028	0,026	0,055	

Уровень заболеваемости в ноябре, в июне и на протяжении всего периода наблюдения превышал не только общее медианное значение, но в июне в 5

случаях из 6 превысил максимальный эпидемический порог. В связи с этим ноябрь и июнь следует включать в число месяцев сезонного подъёма заболеваемости, несмотря на низкие значения их сезонных составляющих.

Таким образом, заболеваемость ЭВМ в РФ аналогично общей заболеваемости ЭВИ имела стабильную 4-х летнюю периодичностью и устойчивую сезонность с ежегодным пиком заболеваемости в августе-сентябре.

Очаговость. В периоды локальных максимумов наблюдался рост числа эпидемических очагов групповой заболеваемости ЭВМ, в период локальных минимумов происходило их снижение (Рисунок 16).

Наблюдалась прямая, статистически значимая сильная корреляционная связь между дельтами периодов, определяющих направление и степень изменения уровня заболеваемости и числом очагов групповой заболеваемости, ранговый коэффициент корреляции Спирмена составил $R_s=0,91$ ($p=0,00004$). Корреляция между уровнем заболеваемости ЭВМ и количеством очагов также была прямой, статистически значимой, но выражена слабее, коэффициент корреляции Спирмена составил $R_s=0,69$ ($p=0,0085$).

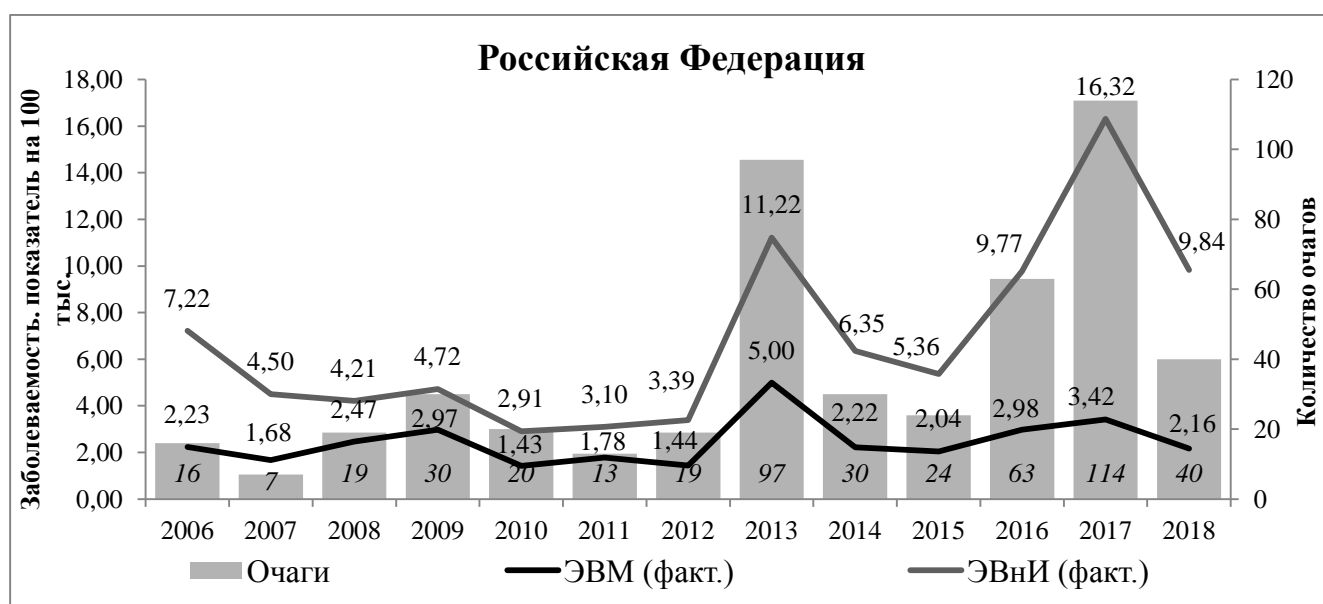


Рисунок 16. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией и энтеровирусным менингитом (сл./100 тыс.) и количество

эпидемических очагов энтеровирусных менингитов в Российской Федерации (2006-2018 гг.).

Корреляционная связь между уровнем заболеваемости ЭВМ и коэффициентом общей очаговости, а также корреляционная связь между дельтами изменений данных показателей отсутствовала (коэффициент корреляции Спирмена-0,21 и 0,15 соответственно).

Таким образом, нами не была выявлена связь между уровнем заболеваемости ЭВМ и средними размерами эпидемических очагов по числу пострадавших, следовательно, несмотря на то, что на динамику количества очагов и уровень заболеваемости ЭВМ действовали общие факторы, сила этого воздействия была не одинакова.

Возрастная структура. Возрастная структура заболевших ЭВНИ и ЭВМ (Рисунок 17) существенно не отличались ($\chi^2=0,095$, d.f.=1, $p=0,757$).

Российская Федерация, 2006-2018 гг.

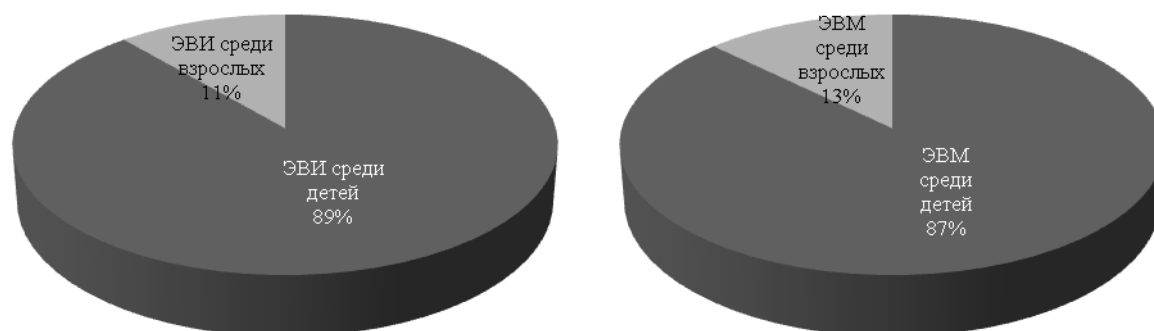


Рисунок 17. Возрастная структура заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией и энтеровирусным менингитом в РФ (2006-2018 гг.), %

Относительный риск возникновения у детей ЭВМ был в 58,0 раз выше, чем у взрослых (RR= 58,045, 95 % ДИ от 52,582 до 64,076). Вместе с тем, динамика заболеваемости ЭВМ у детей и взрослых во многом совпадала (Рисунок 18) и

имела сильную, прямую, статистически значимую корреляционную связь ($R_s=0,7692$ при $p=0,0021$, $R=0,9323$ при $p=0,000003$).

Средний многолетний уровень заболеваемости среди детей составил $20,34\text{‰}$ с темпом прироста $0,9\%$, что характерно для временных рядов без выраженных тенденций к росту или снижению. Более информативно данный временной ряд характеризует медиана заболеваемости, которая составила $18,14\text{‰}$ и межквартильный размах от $15,43\text{‰}$ до $24,76\text{‰}$.

Локальные максимумы показателей заболеваемости ЭВМ среди детей зарегистрированы в 2009 г. ($27,76\text{‰}$), в 2013 г. ($43,24\text{‰}$) и в 2017 г. ($28,24\text{‰}$), минимальный уровень – в 2010 г. ($11,65\text{‰}$).

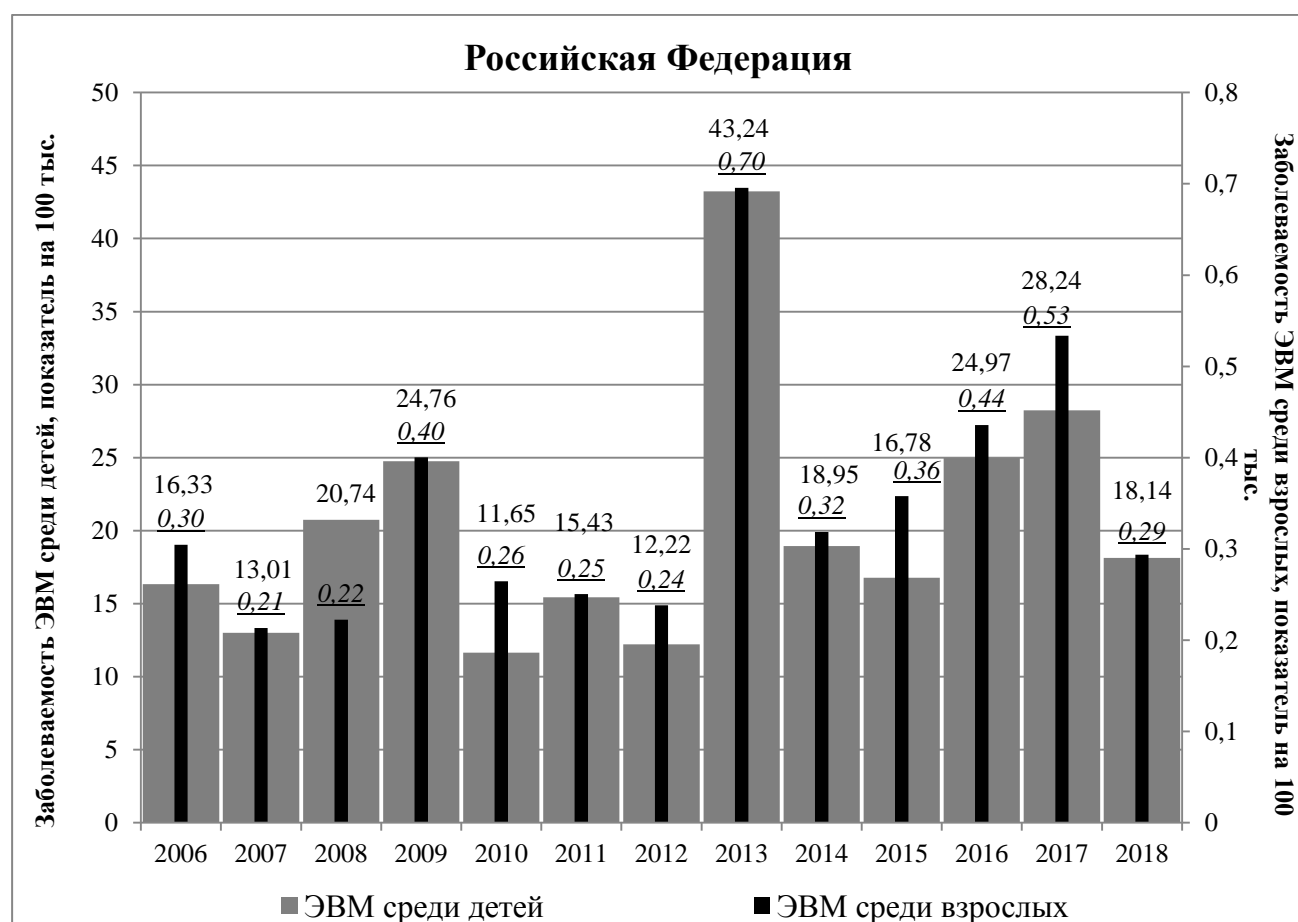


Рисунок 18. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом среди детского и взрослого населения в Российской Федерации (2006-2018 гг.), сл./100 тыс.

Таким образом, эпидемический процесс ЭВНИ за изучаемый период времени (2006-2019 гг.) в РФ характеризовался неравномерностью распределения по годам с двумя противоположными трендами: первый - с 2006 по 2010 гг. (снижение заболеваемости) и второй - с 2010 по 2019 гг. (рост заболеваемости). Среднемноголетний уровень составил $8,09\text{‰}$, темп прироста - 17,7 %. Максимальный показатель зарегистрирован в 2017 г. ($16,32\text{‰}$). Эпидемический процесс характеризовался 4 летней периодичностью и летне-осенней сезонностью с пиковыми значениями в августе-сентябре. В структуре заболевших - 7,6 % составляли лица из очагов с 3 и более случаями. Показатель общей очаговости составил 20,0. Наблюдалась сильная прямая корреляционная связь ($R_s=0,813$, при $p=0,0007$) между показателем доли лиц, вовлеченных в эпидемический процесс относительно общего количества случаев ЭВНИ, что свидетельствует о существенном влиянии очагов групповой заболеваемости на интенсивность эпидемического процесса ЭВНИ. Группой риска по заболеваемости ЭВНИ явились дети, заболеваемость которых составила $70,83\text{‰}$ и в 81,4 раза превысила заболеваемость среди взрослого населения ($0,87\text{‰}$). Максимальный показатель за изучаемый период среди детского населения составил $142,12\text{‰}$, темп прироста находился на уровне 18,7 %. Дети в годы максимальных подъемов заболеваемости вовлекались в эпидемический процесс на 1-2 мес. раньше, чем взрослые, что позволяет рассматривать этот факт как прогностический признак эпидемического неблагополучия на территории. Вместе с тем, в РФ имела место относительная стабилизация заболеваемости при наиболее тяжелой клинической форме ЭВНИ, энтеровирусному менингиту, темп снижения в динамике заболеваемости которой составил - 0,3 % при общем СМУ заболеваемости - $2,50\text{‰}$. Относительный риск развития ЭВМ в когорте детей был в 58,0 раз выше, чем среди взрослого населения.

3.2 Особенности эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем заболеваемости (на примере Уральского Федерального округа и Западной Сибири)

За последние десятилетия во многих странах мира были зарегистрированы масштабные вспышки ЭВНИ, нанесшие колоссальный урон, прежде всего, странам Азиатско-Тихоокеанского региона [102, 114, 122, 289]. В этой связи изучение проявлений эпидемического процесса ЭВНИ в районах, граничащих с неблагополучными территориями, является весьма актуальным. Нами проведен анализ заболеваемости ЭВНИ на 9-ти отдельно взятых территориях Урало-Сибирского региона (в Уральском Федеральном округе и Западной Сибири). В число исследуемых территорий вошли: Свердловская, Челябинская, Тюменская, Томская, Кемеровская, Омская, Новосибирская области и Ханты-Мансийский автономный округ – Югра (ХМАО). Критерием включения регионов в исследование послужило наличие наиболее полной этиологической расшифровки случаев ЭВНИ.

Для более наглядного анализа, субъекты Российской Федерации, находящиеся в пределах обозначенных территорий, были разделены на 2 группы: группа с уровнем заболеваемости ЭВНИ, статистически значимо превышающим уровень по РФ (Группа №1) и группа с уровнем заболеваемости ЭВНИ соответствующим или ниже среднероссийских показателей (Группа №2). Для этого, временной ряд показателей заболеваемости каждого из регионов (2006-2019 гг.) сравнивали с аналогичным временным рядом по РФ. Из показателей по РФ были исключены численность населения региона и количество случаев ЭВНИ. В качестве статистического критерия различия использовали критерий Манна-Уитни для 2-х независимых выборок (Таблица 11).

Среднегодулетние уровни заболеваемости
энтеровирусной (неполио) инфекцией на отдельных территориях Уральского
Федерального округа и Западной Сибири в РФ (2006-2019 гг.)

Территория	СМУ	Медиана	1 кварт.	3 кварт.	МКИ (IQR)	U	p-level
Томская область	26,76	24,43	14,32	31,59	17,27	25	0,0009
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
ХМАО	28,60	18,21	7,13	39,90	32,77	35	0,0041
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Тюменская область	17,81	9,55	6,92	15,08	8,17	51	0,0326
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Свердловская область	15,85	12,47	6,42	17,91	11,48	49	0,0259
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Курганская область	12,21	4,39	2,14	15,97	13,83	91	0,7652
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Челябинская область	4,98	3,16	1,66	5,18	3,52	56	0,0565
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Кемеровская область	5,53	4,27	3,63	6,12	2,49	81	0,4484
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Омская область	4,87	3,64	2,72	4,46	1,74	60	0,0849
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		
Новосибирская область	4,11	3,84	2,06	6,25	4,19	53	0,0409
РФ без УФО и ЗС	6,60	5,21	4,05	9,08	5,03		

В соответствие с полученными результатами, к группе регионов с высоким уровнем заболеваемости, достоверно превышающим показатели по РФ (Группа №1) были отнесены Томская, Тюменская, Свердловская области и ХМАО. В группу с низкими показателями заболеваемости (Группа №2) – Курганская, Кемеровская, Челябинская, Новосибирская и Омская.

3.2.1 Анализ заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса

Многолетняя динамика заболеваемости. Многолетняя динамика заболеваемости на территориях с высокой интенсивностью эпидемического

процесса (в Группе №1) во многом повторяла таковую по РФ. Однако, в связи с тем, что переход на регистрацию ЭВНИ по результатам молекулярно-генетических и вирусологических исследований на представленных территориях произошёл на 1 год позже, второй период (см. п. 3.1.) начался не с 2010 г. (Рисунок 1), как в целом по РФ, а с 2011 г. (Рисунок 19).

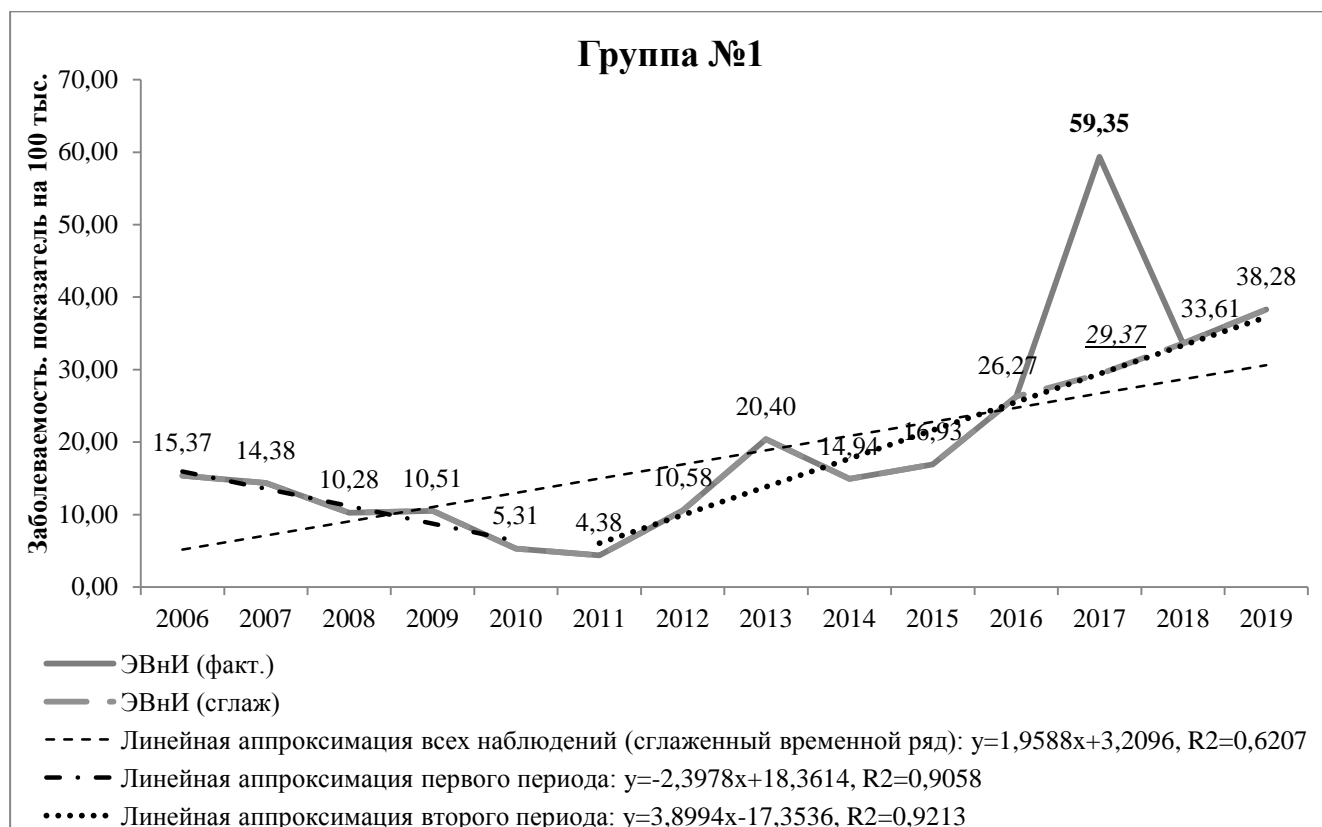


Рисунок 19. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса за 2006-2019 гг., пок. на.100 тыс.

Непараметрические методы статистики описывают данные временные ряды более наглядно: медиана заболеваемости ЭВНИ за период с 2006 по 2019 год составила $15,15\text{‰}$, межквартильный интервал от $10,53\text{‰}$ до $24,81\text{‰}$, за период с 2006 по 2010 год медиана – $10,51\text{‰}$, межквартильный интервал от $10,28\text{‰}$ до $14,38\text{‰}$, за период с 2011 по 2019 год медиана составила $20,40\text{‰}$, межквартильный интервал от $14,94\text{‰}$ до $33,61\text{‰}$. Уровень заболеваемости ЭВНИ с 2006 по 2010 год варьировал от $5,31\text{‰}$ до $15,37\text{‰}$, с 2011 по 2019 год от $4,38\text{‰}$ до $59,35\text{‰}$. Временной ряд был нестационарным

($p= 0,003$), а формирование линейного тренда показало низкий коэффициент детерминации $R^2=0,54$. После замены выбросов (2017 и 2019 гг.), определенных по методу Тьюки с использованием сглаженных значений методом скользящей средней с периодом 4 года, аппроксимация линейного тренда на весь временной ряд улучшилась, однако, не достигла приемлемых показателей – $R^2=0,62$.

На следующем этапе работы для временного ряда (2017 год с $59,35\text{‰}$ на $29,37\text{‰}$, 2019 год с $48,93\text{‰}$ на $42,04\text{‰}$) был проведен подбор стандартных математических моделей (Таблица 12).

Таблица 12

Математические модели для изучения динамики заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация (ВР с выбросами)	$y=2,5517x+0,9039$	0,5059	12,2843	10,9809
Линейная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=1,9588x+3,2096$	0,6207	19,6379	6,6669
Логарифмическая аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=7,6152\ln(x)+4,1977$	0,3213	5,6797	8,9185
Степенная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=7,6636x^{0,3744}$	0,2026	3,0496	0,5984
Экспоненциальная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=6,9041e^{0,1037x}$	0,4543	9,9917	0,4950

Данные таблицы демонстрируют, что представленные математические модели аппроксимировались хуже первоначально выбранного нами линейного тренда.

Таким образом, пришли к выводу, что анализ второго периода наблюдения, начавшегося для территорий с высокой интенсивностью эпидемического процесса

в 2011 году, необходимо проводить с использованием стандартных математических моделей, которые характеризуются высокими показателями соответствия данному временному периоду (Таблица 13). Наиболее оптимальной математической моделью для периода с 2011 по 2019 год была принята линейная аппроксимация ($R^2=0,9162$).

Таблица 13

Математические модели для изучения динамики заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2011-2019 гг.).

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация	$y=3,8994x-17,3536$	0,9213	81,9661	3,3362
Логарифмическая аппроксимация	$y=36,7545\ln(x)-61,6848$	0,9032	65,3267	3,7002
Степенная аппроксимация	$y=0,1272x^{2,1935}$	0,8680	46,0118	0,2631
Экспоненциальная аппроксимация	$y=1,9584 * e^{0,2238x}$	0,8190	31,6812	0,3080

Исходя из этого, был рассчитан СМУ заболеваемости ЭВНИ, который составил для этих территорий $26,15\text{‰}$, ($\sigma=18,15\text{‰}$). Среднегодовой темп прироста 31,1 % в 1,6 раза превысил аналогичный показатель по РФ (17,7 %). Относительно уровня базисного 2011 года, заболеваемость ЭВНИ выросла к 2019 году в 8,7 раз. Пик заболеваемости, как и в целом по РФ, пришелся на 2017 г. ($59,35\text{‰}$). Превышение показателя относительно максимального по РФ составило 3,6 раза ($16,32\text{‰}$). Минимальный показатель отмечен в 2011 г. - $4,38\text{‰}$.

Заболеваемость ЭВНИ в изучаемый период времени имела сильную корреляционную связь с общей заболеваемостью в РФ ($R=0,94$, корреляция для цепных приростов $R=0,84$). В течение указанного периода каждый 6-й случай

ЭВИ в РФ регистрировали в группе с высокой интенсивностью эпидемического процесса (Рисунок 20).

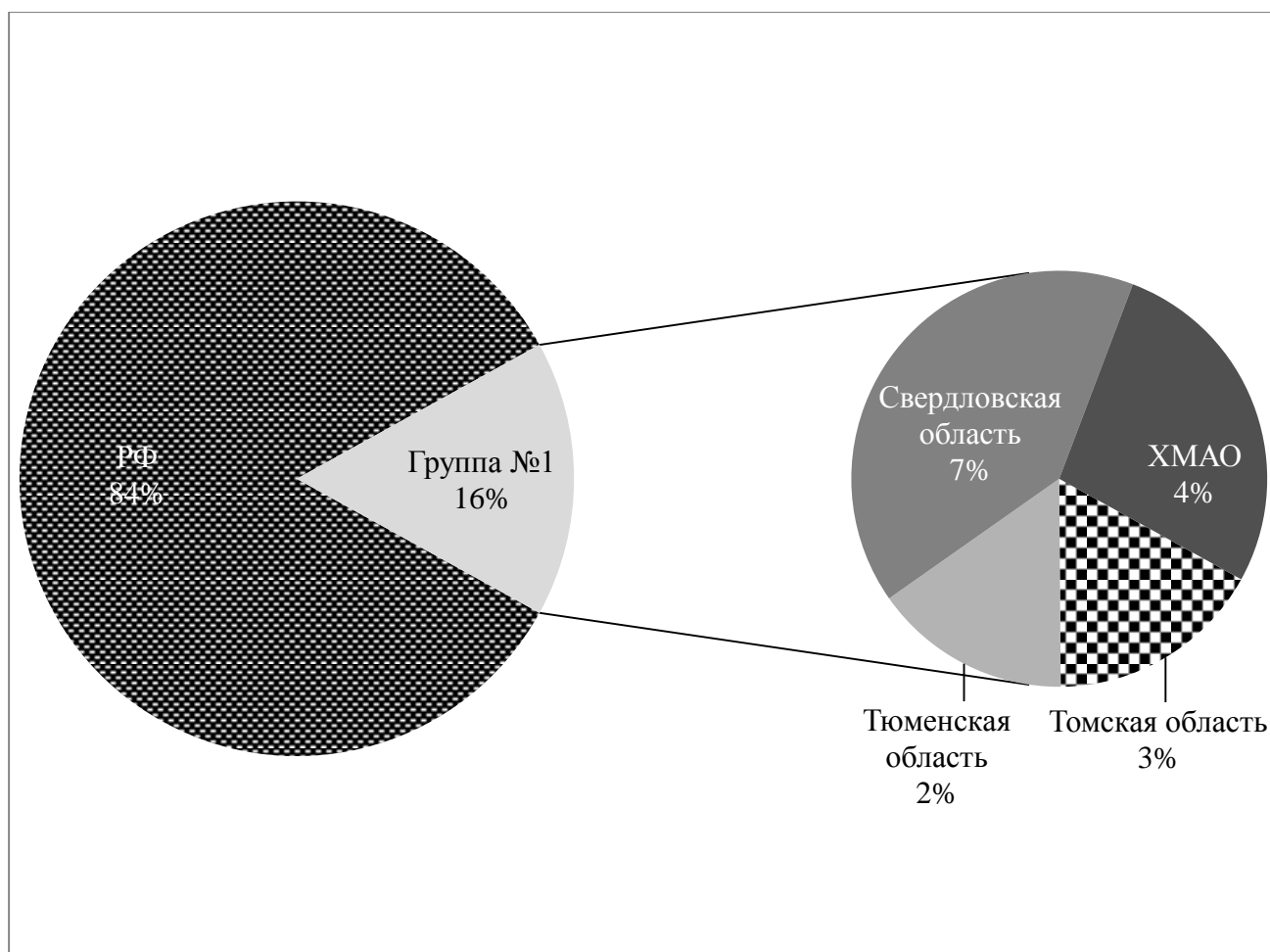


Рисунок 20. Доля случаев энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса в общей структуре заболеваемости по Российской Федерации (2006 - 2019 гг.)

Относительный риск возникновения ЭВНИ на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса был в 2,7 раз выше, чем в среднем по Российской Федерации (RR= 2,740, 95 % ДИ от 2,598 до 2,890).

Цикличность. Спектральный анализ временного ряда (2007 - 2019 гг.) выявил цикличность с ростом заболеваемости каждые 2 и 4 года (Рисунок 21), при этом каждый новый подъём был выше предыдущего.

Как и в целом по РФ, заболеваемость ЭВНИ характеризовалась летне-осенней сезонностью с максимальными значениями в августе-сентябре.



Рисунок 21. Периодограмма заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.).

Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Очаговость. Из 23674 случаев ЭВНИ, зарегистрированных за изучаемый период число пострадавших в очагах групповой заболеваемости (104 очага) с 3-мя и более случаями составило 3094 (Рисунок 22) или 15,2 % с показателем общей очаговости - 34,38. Максимальный показатель в 2017 году соответствовал $17,97\text{‰}$. Минимальный ненулевой показатель зарегистрирован в 2010 году $0,07\text{‰}$. Стационарный временной ряд (U-тест: $U=12$, $p=0,2246$) не имел выраженных тенденций к росту или снижению, однако подъёмы заболеваемости в очагах совпадали с общими подъемами заболеваемости ЭВНИ, что позволяло предположить о влиянии групповой заболеваемости на рост числа случаев ЭВНИ в периоды эпидемического неблагополучия.

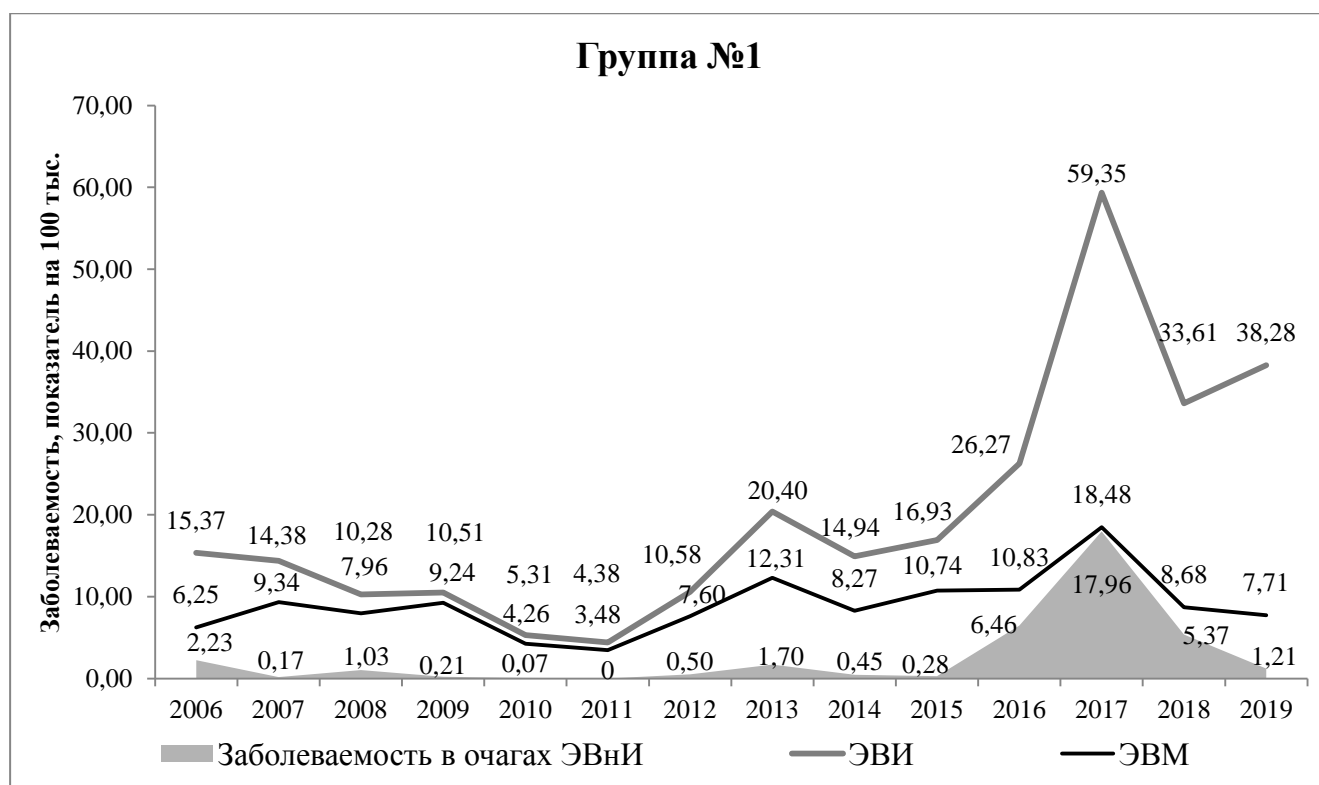


Рисунок 22 Динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией и энтеровирусным менингитом в очагах групповой заболеваемости на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

Наибольшее число очагов регистрировали в 2017 г. (35 очагов). Периодичность числа зарегистрированных очагов ЭВМ соответствовала периодичности подъёмов заболеваемости ЭВНИ и также имела 4-х летний интервал (Рисунок 23). С 2006 по 2015 гг. доля лиц, вовлеченных в эпидемический процесс в очагах групповой заболеваемости, была минимальной (Рисунок 24), уровень заболеваемости не превысил $2,23\text{‰}$.

Известно, что влияние групповой заболеваемости ЭВНИ на показатель уровня заболеваемости характеризует такой показатель, как доля случаев зарегистрированных в очагах групповой заболеваемости относительно всех случаев ЭВНИ. В отличие от индекса очаговости, данный показатель связан с общим числом заболевших лиц. Сравнение этих показателей позволяет дать нормированную оценку отношения числа очагов к числу заболевших.

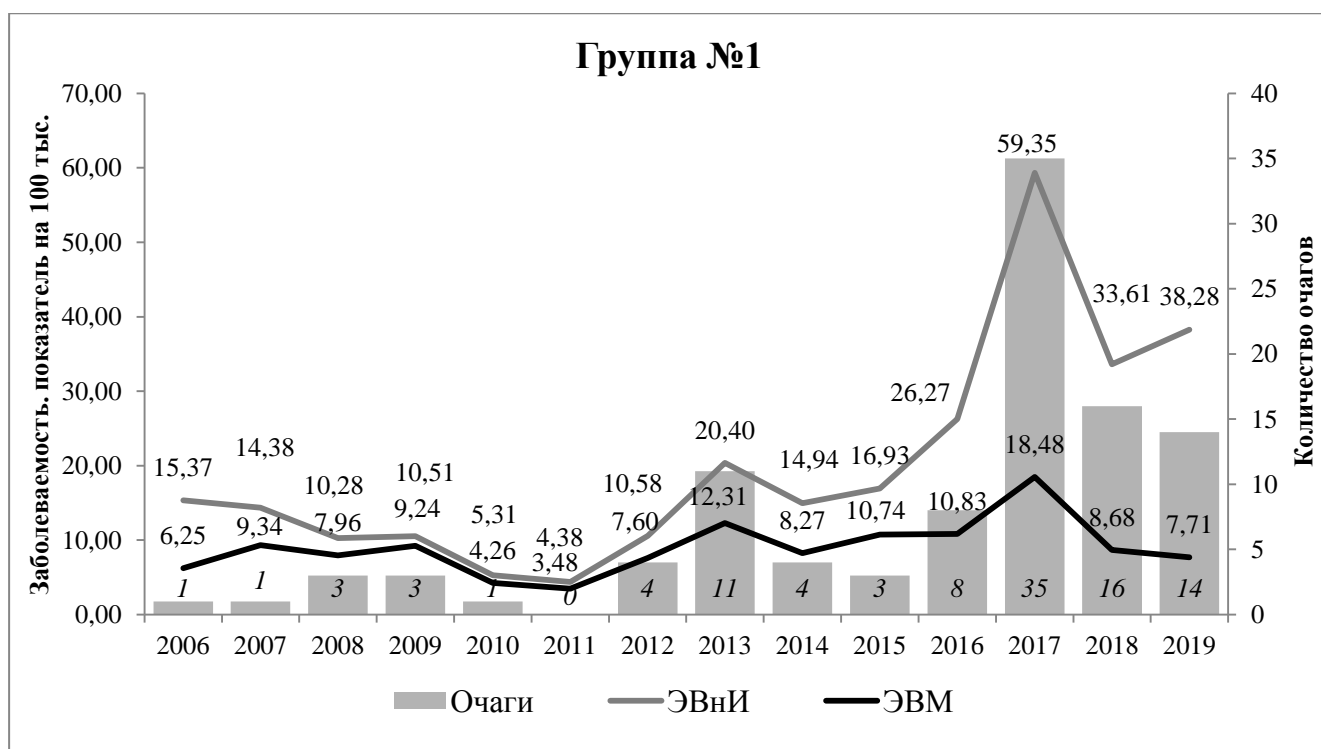


Рисунок 23. Многолетняя динамика заболеваемости и количество эпидемических очагов энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

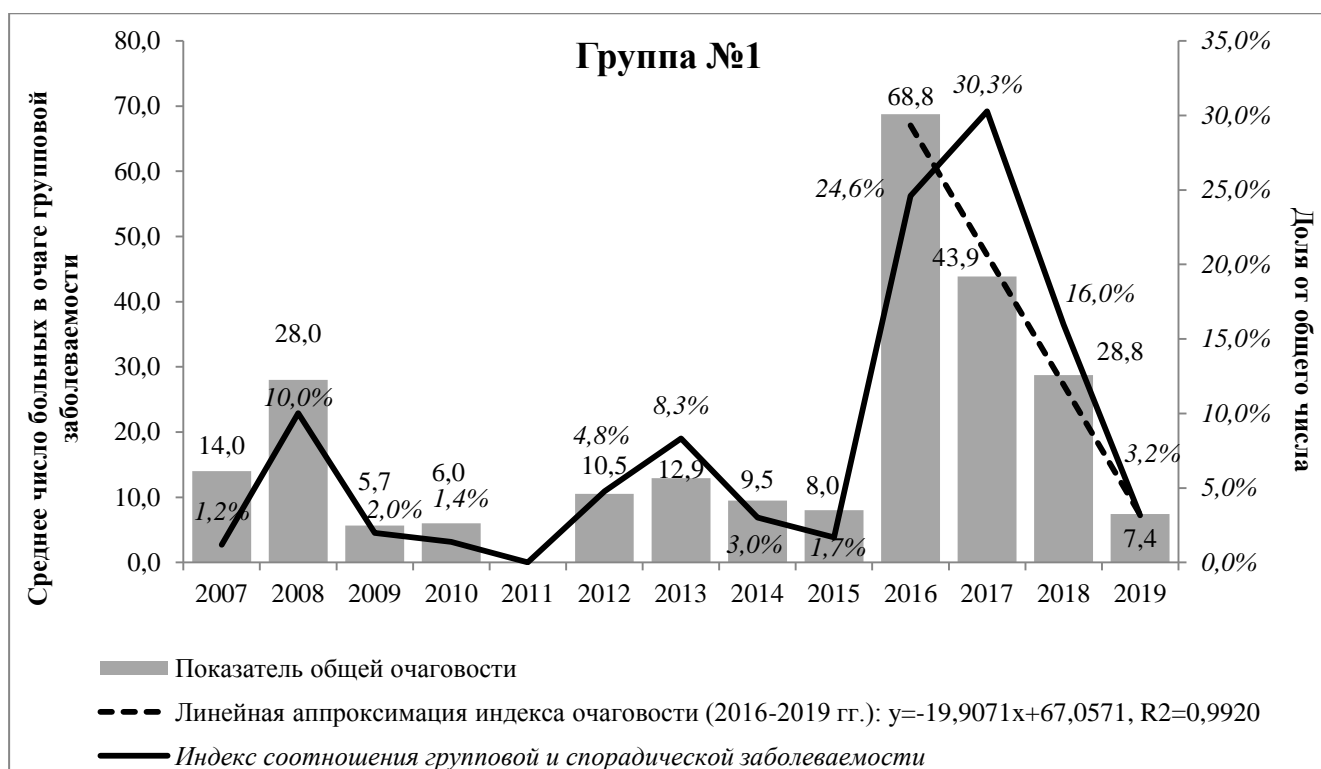


Рисунок 24. Показатель общей очаговости и доля лиц в очагах групповой заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2007-2019 гг.).

Изменение индекса очаговости в динамике в период с 2006 по 2019 год демонстрирует особый подход к эпидемиологической диагностике в очагах с неединичными случаями, что иллюстрирует пример с ХМАО.

До 2016 года подходы к определению границ эпидемических очагов групповой заболеваемости ЭВНИ в ХМАО соответствовали общероссийским принципам. Однако, с 2016 года в условиях значительного подъёма заболеваемости, в рамках управленческих решений за границы очага на обозначенной территории стали принимать весь населённый пункт, где были зарегистрированы групповые случаи ЭВНИ (Ханты-Мансийск, Нижневартовск, Сургут). Таким образом, число лиц, вовлечённых в эпидемический процесс при групповой заболеваемости ЭВНИ, достигло значительной доли (Рисунок 25).

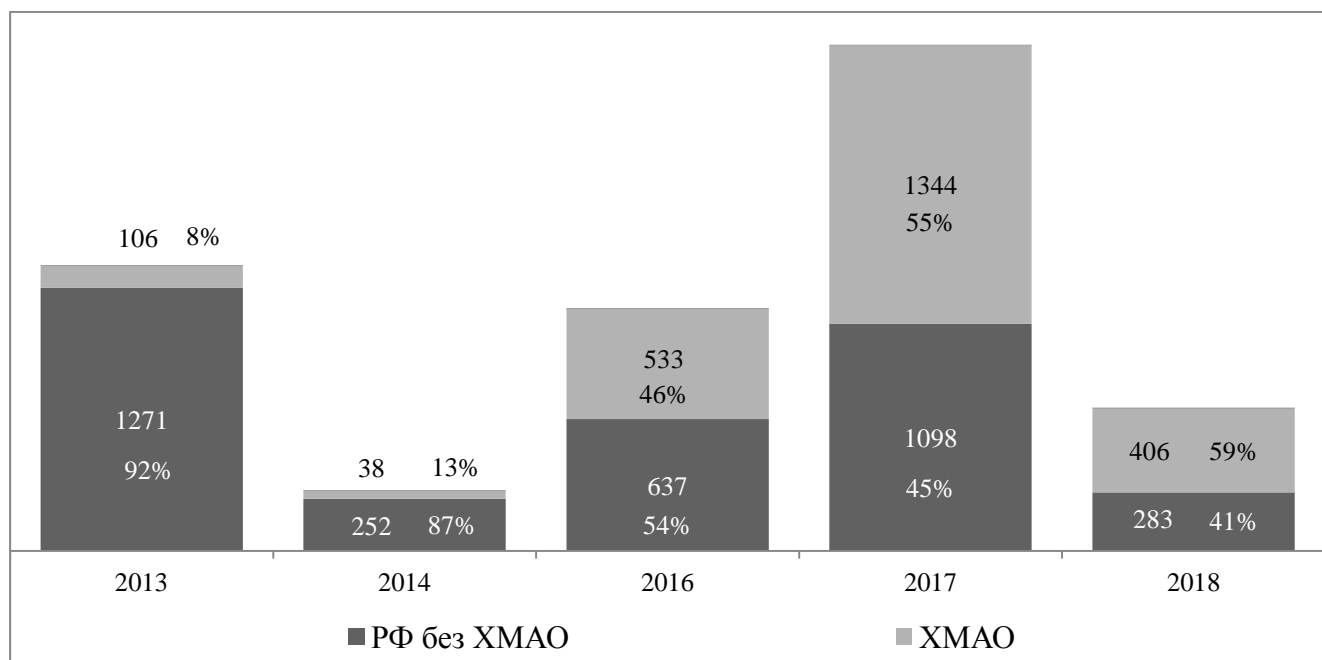


Рисунок 25. Доля заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией, зарегистрированной в Ханты-Мансийском автономном округе - ЮГРА в структуре групповой заболеваемости на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2013 – 2018 гг.) в %.

Одной из причин такого подхода явилось буквальное толкование требований п.5 «Перечня инфекционных, паразитарных болезней, поствакцинальных осложнений и необычных реакций после применения иммунобиологических лекарственных препаратов, внеочередные донесения о

которых представляются в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека», утверждённого постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 4 февраля 2016 г. № 11 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера», согласно которому внеочередные донесения о групповой заболеваемости предоставляются в Роспотребнадзор при выявлении среди населения случаев инфекционных и паразитарных болезней или подозрений на инфекционные и паразитарные болезни, возникшие в пределах одного инкубационного периода или на одной территории. Поскольку на территории каждого крупного населённого пункта в ХМАО случаи ЭВНИ регистрировали с началом сезонного подъёма заболеваемости с интервалом менее одного инкубационного периода, то по формальным признакам их регистрацию осуществляли как один очаг групповой заболеваемости.

Обозначенный выше подход к эпидемиологической диагностике ЭВНИ в ХМАО требует корректировки в части определения истинного количества очагов и их реальных границ.

Возрастная структура. Заболеваемость ЭВНИ среди детей существенно превышала уровень заболеваемости ЭВНИ среди взрослых (в 75,5 раза), СМУ в когорте детского населения составил $204,83^{\circ}/_{0000}$ с темпом прироста 31,6 %. В общей структуре заболеваемости доля детского населения составила 89,0 %. Максимальный показатель зарегистрирован в 2017 г. - $479,41^{\circ}/_{0000}$, минимальный в 2011 г. - $35,46^{\circ}/_{0000}$. Динамика заболеваемости ЭВНИ среди взрослых соответствовала уровню среди детского населения (Рисунок 26).

Относительный риск возникновения ЭВНИ у детей, рассчитанный по данным за период с 2010 по 2019 год 77,0 раз превысил таковой у взрослых (RR=76,974, 95 % ДИ от 66,239 до 89,449). Необходимо отметить, что относительный риск заболеть ЭВНИ у детей в РФ, рассчитанный за тот же период времени, был в 82,0 раза выше, чем у взрослых (RR=81,742, 95 % ДИ от 76,897 до 86,892).

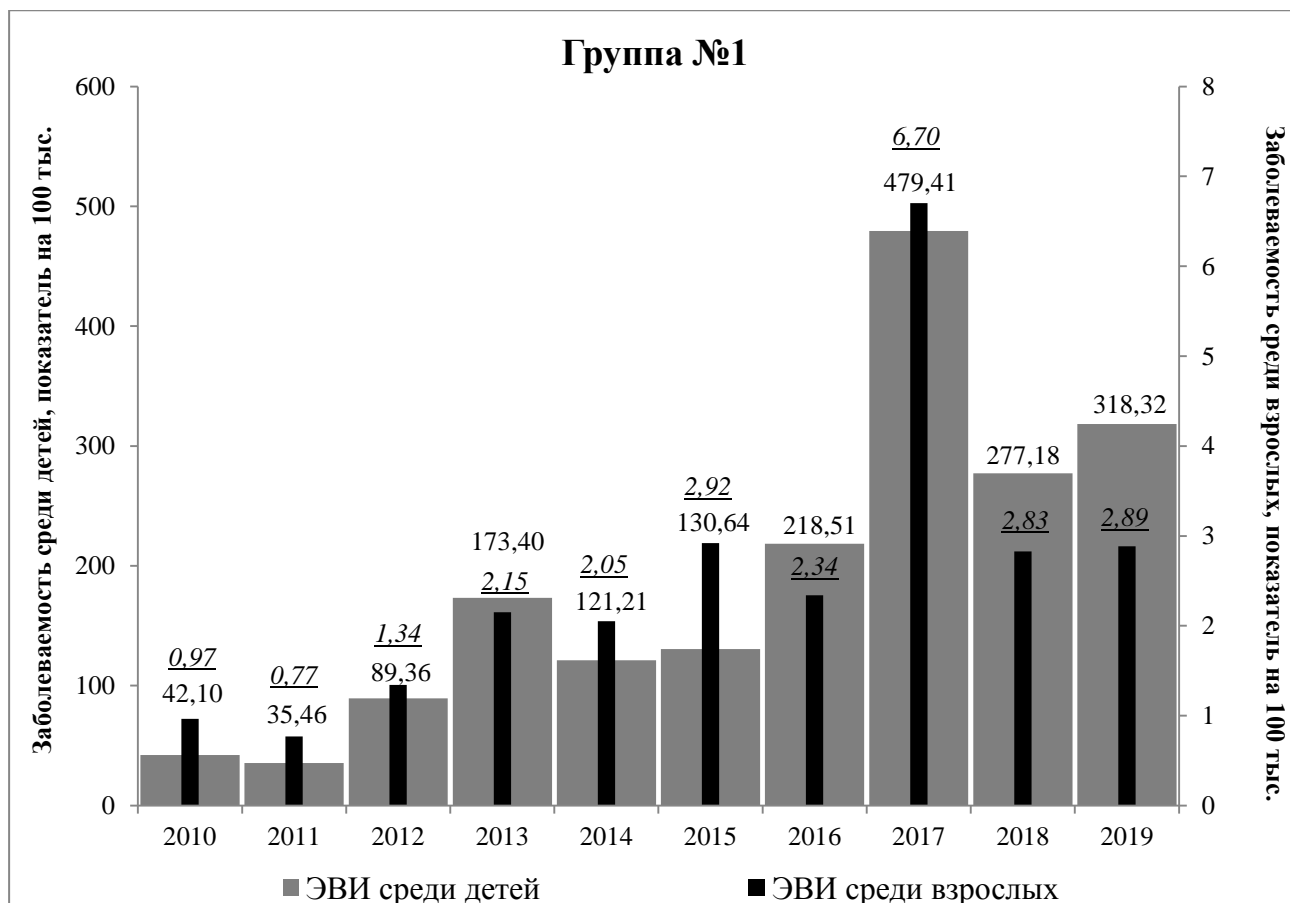


Рисунок 26. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса среди детей и взрослых (2010-2019 гг.), сл./100 тыс.

Учитывая, что значение относительных рисков на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса и в РФ находилось в пределах границ 95 %-х доверительных интервалов, между относительными рисками возникновения ЭВНИ у детей и взрослых населением на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса и в среднем по РФ отсутствовали статистически значимые различия.

Рассчитанный за этот же период времени относительный риск заболевания ЭВНИ среди детей, проживающих на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса, был в 2,7 раза выше, чем в целом у детей на территории РФ (RR=2,700, 95 % ДИ от 2,568 до 2,839).

Многолетняя динамика возрастной структуры заболевших (Рисунок 27) выявила относительное увеличение доли детей в общей структуре заболеваемости от 83,7 % (в 2010 г.) к 93,3 % (в 2019 г.).

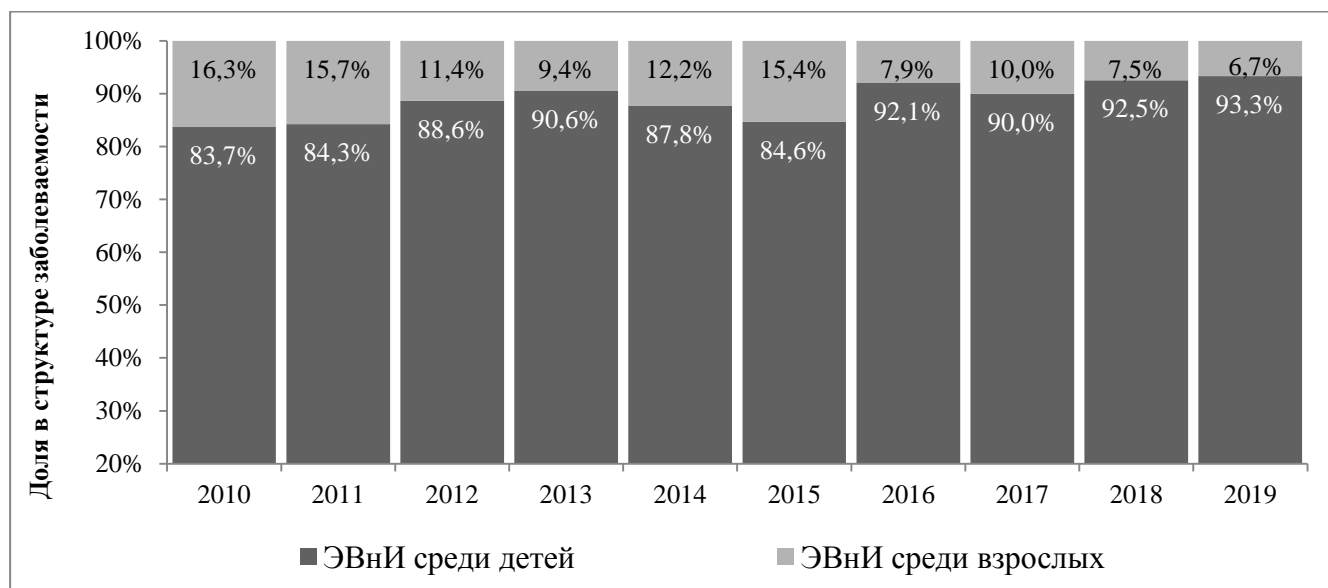


Рисунок 27 Возрастная структура заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2010-2019 гг.)

Заболеваемость энтеровирусным менингитом. При проверке стационарности временного ряда заболеваемости ЭВМ на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса изучаемые периоды разделяли относительно 2011 года. При таком подходе временной ряд демонстрировал стационарность ($p=0,35$, при использовании U-теста, и $p=0,25$, при использовании t-теста), что подтверждалось низкими коэффициентами детерминации для стандартных математических моделей как при их аппроксимации на весь временной ряд (Таблица 14), так и на его участки (Таблица 15).

Стационарность временного ряда характеризовала заболеваемость ЭВМ в как стабильную, но стабильно высокую. СМУ составил $9,13\text{‰}$ и превысил аналогичный показатель по РФ ($2,45\text{‰}$) в 3,7 раза.

Математические модели для изучения динамики заболеваемости
энтеровирусным менингитом на территориях с высокой интенсивностью
эпидемического процесса (2006 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация (ВР с выбросами)	$y=0,2512x+1,3494$	0,2275	3,5347	2,0155
Линейная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=0,1870x+1,5993$	0,2073	3,1390	1,5917
Логарифмическая аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=0,7711x^{1,2396}$	0,3121	5,4433	1,4829
Степенная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=0,7048x^{0,6949}$	0,5652	15,5990	0,4911
Экспоненциальная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=1,1244e^{0,1044x}$	0,3728	7,1333	0,5898

Таблица 15

Математические модели для изучения динамики заболеваемости
энтеровирусным менингитом на территориях с высокой интенсивностью
эпидемического процесса (2011 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация	$y=0,0972x+2,4690$	0,0413	0,3018	1,3705
Логарифмическая аппроксимация	$y=1,3325\ln(x)+0,4202$	0,0857	0,6562	1,3384
Степенная аппроксимация	$y=1,1591x^{0,4497}$	0,1043	0,8153	0,4053
Экспоненциальная аппроксимация	$y=2,3049e^{0,0332x}$	0,0516	0,3806	0,4170

Среднегодовой темп прироста достиг 2,8 %, и свидетельствовал о слабой тенденции заболеваемости к росту, в отличие от показателя по Российской

Федерации, который за период с 2006 по 2018 год демонстрировал стабильность и составил $-0,3\%$.

Наиболее значимый подъем заболеваемости ЭВМ был зарегистрирован в 2017 году – $18,48\text{‰}$ (Рисунок 28), он превысил аналогичный показатель по РФ в 5,4 раза.

Абсолютный минимум отмечен в 2011 году - $3,48\text{‰}$, что, вероятно, связано с изменением общих подходов к регистрации случаев ЭВНИ в РФ.

При этом доля заболевших ЭВМ за период с 2006 по 2018 год на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса относительно всех случаев ЭВМ, зарегистрированных в РФ, составила $21,4\%$.

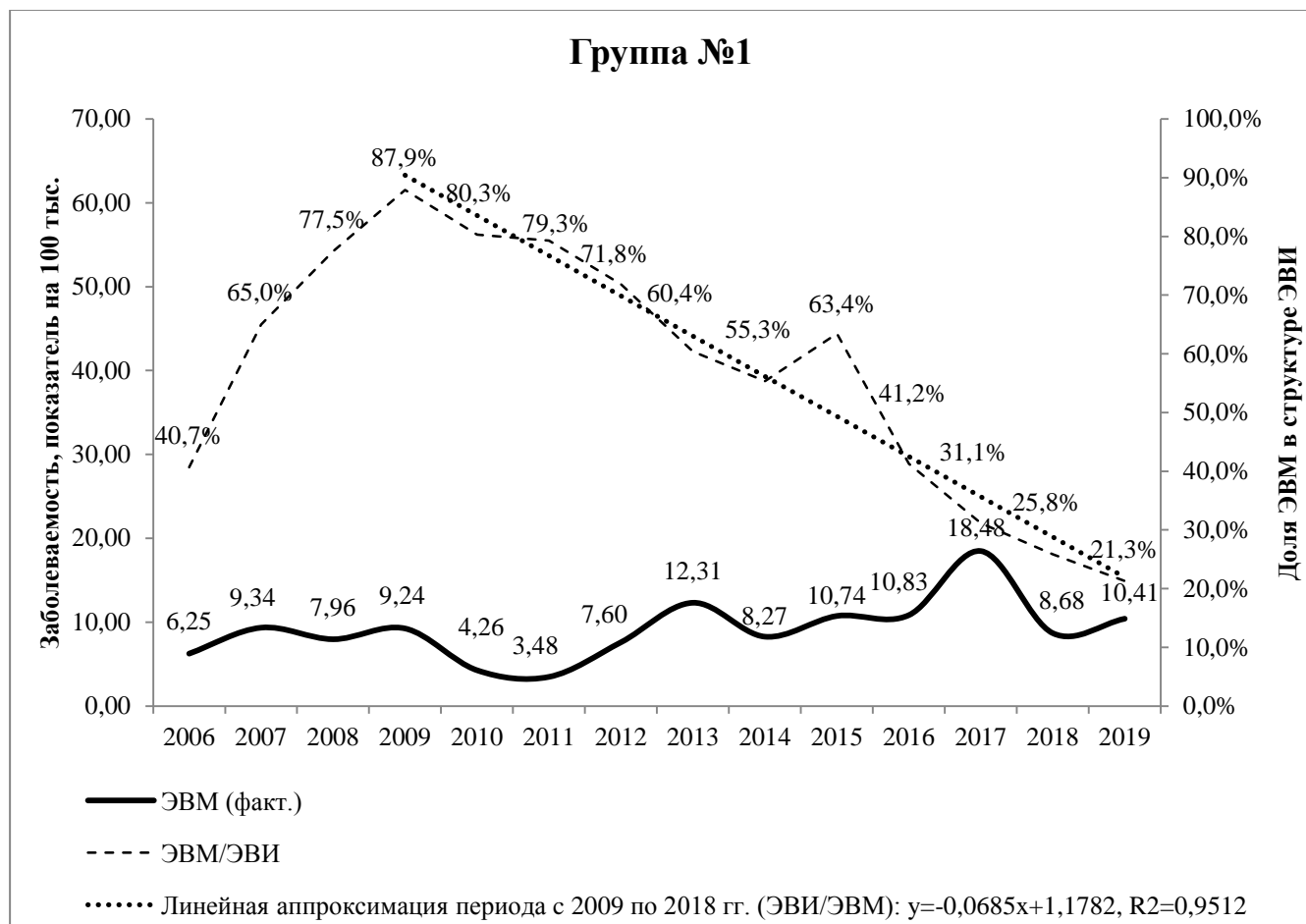


Рисунок 28. Многолетняя динамика заболеваемости (сл./100 тыс.) и доля лиц (в %) с энтеровирусным менингитом в клинической структуре заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.).

Наибольший вклад относительно регионов, вошедших в территории с высокой интенсивностью, пришёлся на Свердловскую область, в которой было выявлено 11 % всех случаев ЭВМ в РФ (Рисунок 29).

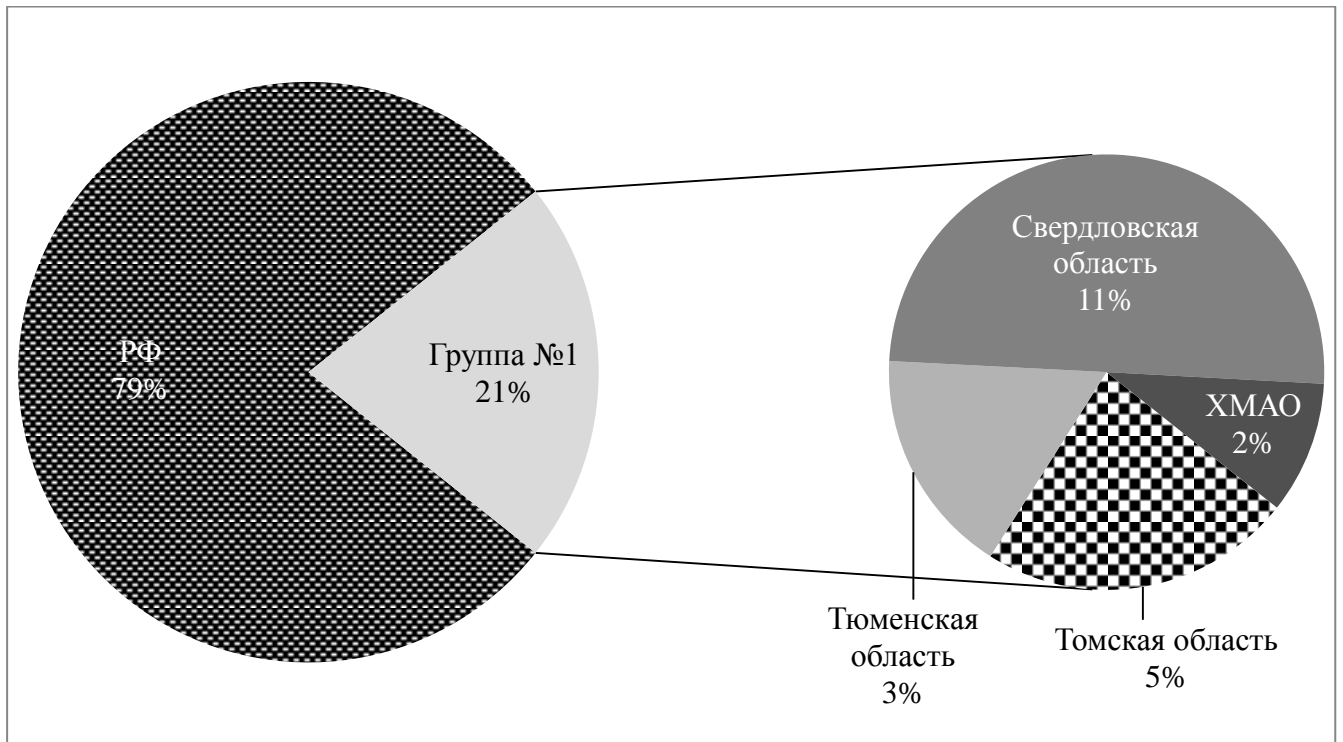


Рисунок 29. Доля случаев энтеровирусного менингита на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса в общей структуре заболеваемости энтеровирусным менингитом по Российской Федерации (2006-2019 гг.) в %.

Относительный риск возникновения ЭВМ на неблагоприятных территориях (Группа № 1) был в 3,7 раза выше, чем в среднем по Российской Федерации ($RR=3,704$, 95 % ДИ от 3,424 до 4,007). Заболеваемость ЭВМ носила волнообразный характер (Рисунок 30). Однако, в отличие от характера периодичности подъёмов заболеваемости в РФ, на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса наблюдалась ярко выраженная 2-х летняя периодичность.

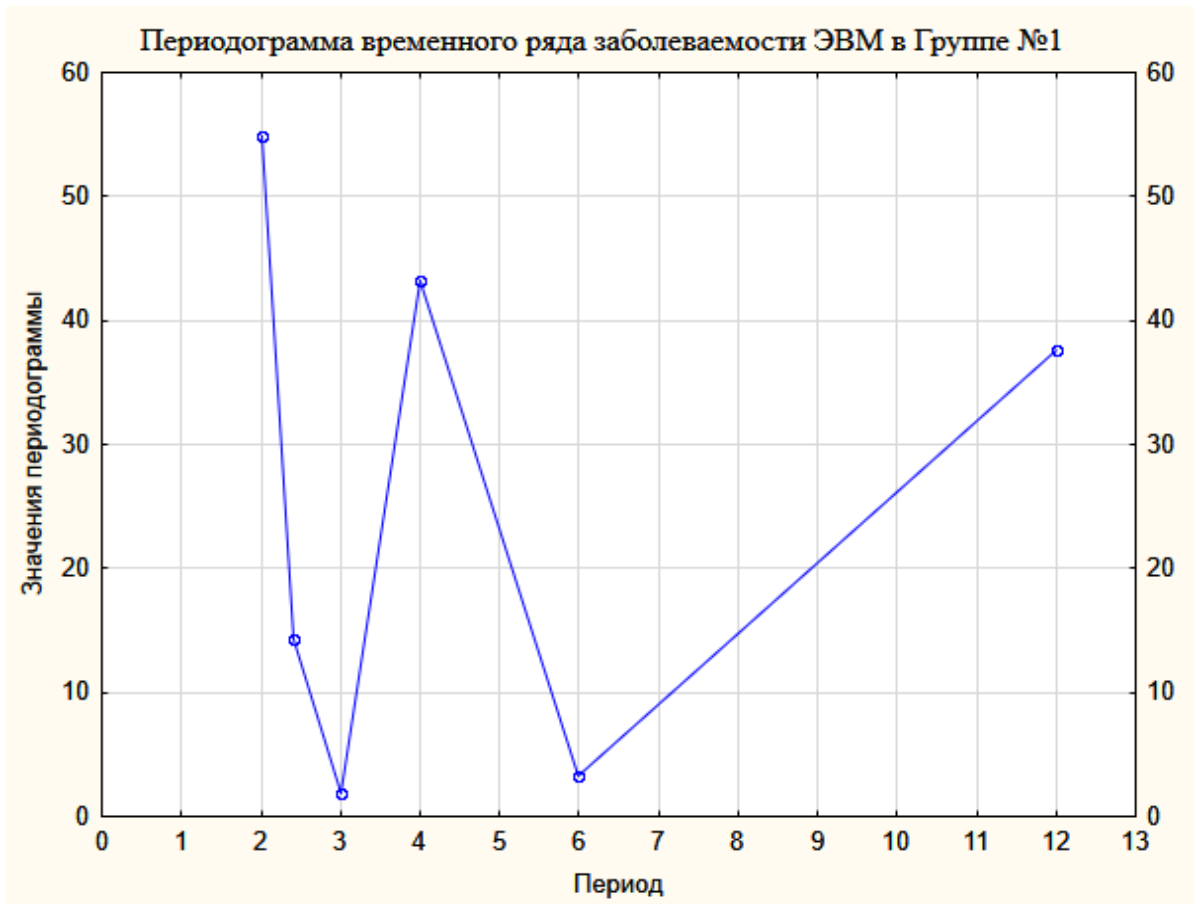


Рисунок 30 Периодограмма заболеваемости энтеровирусным менингитом на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.).
Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

3.2.2 Анализ заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса

Многолетняя динамика заболеваемости

Временной ряд заболеваемости ЭВНИ на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса при сравнении периодов относительно 2011 года (Рисунок 31) был стационарным: U-тест: $p=0,1096$, t-тест: $p=0,132$.

Однако содержал один выброс в 2017 году (17,61‰/0000), выявленный по методу Тьюки (отклонение от медианы более чем на 1,5 межквартильных интервала).

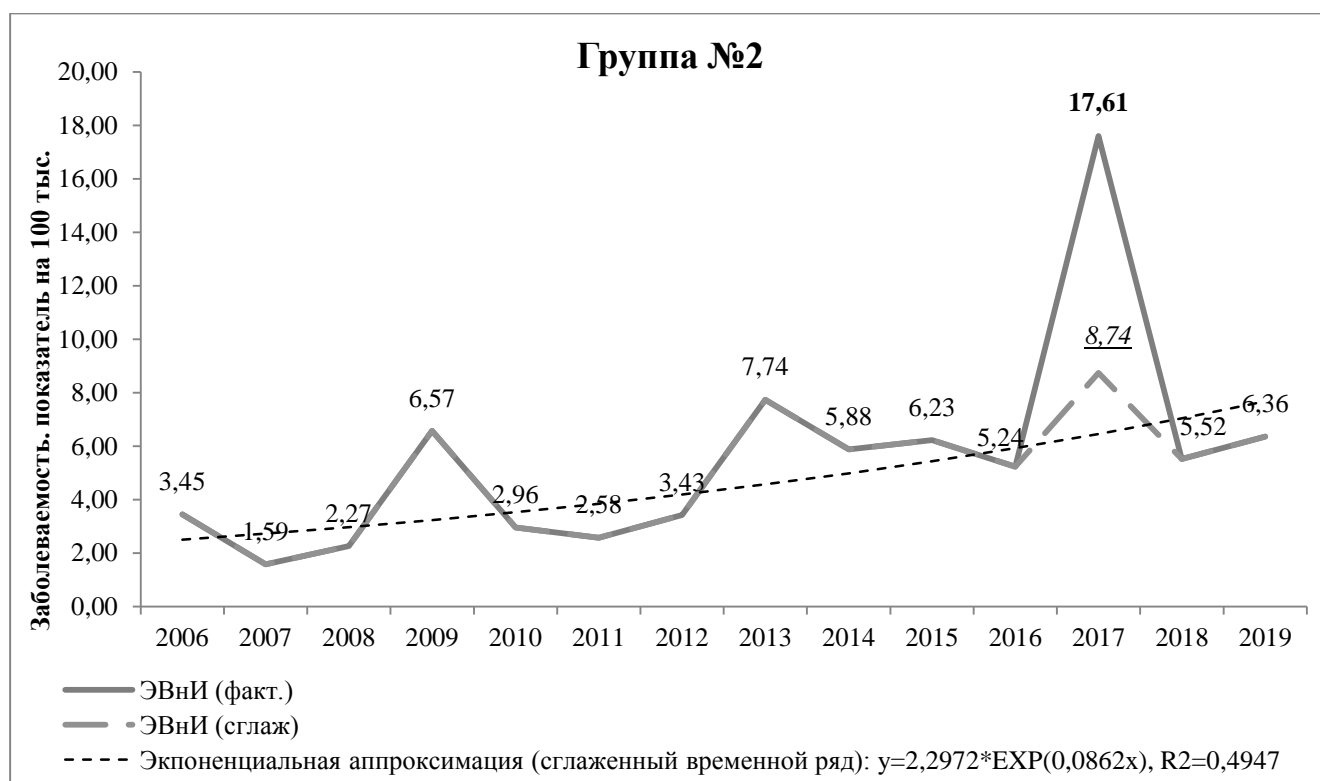


Рисунок 31. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

В связи с этим, все стандартные математические модели плохо аппроксимировались на данный временной ряд (Таблица 16).

Таблица 16

Математические модели для изучения динамики заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006 - 2019 гг.)

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация (ВР с выбросами)	$y=0,5284x+1,5676$	0,3120	5,4420	3,4163

Окончание Таблицы 16

Тренд	Математическая модель	Коэффициент детерминации R^2	F-критерий	Стандартная ошибка для оценки y
Линейная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=0,3529x+2,2500$	0,4546	10,0037	1,6830
Логарифмическая аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=1,7959\ln(x)+1,6653$	0,4031	8,1051	1,7607
Степенная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=1,9931x^{0,4383}$	0,4378	9,3437	0,4002
Экспоненциальная аппроксимация (ВР без выбросов)	$y=2,2972e^{0,0862x}$	0,4947	11,7493	0,3794

Для обеспечения робастности (устойчивости применяемых методов к выбросам) при подборе математических моделей был использован сглаженный временной ряд, в котором значение показателя 2017 года (выброса) было заменено на значение скользящей средней с ретроспективным окном в 4 года. Полученное таким способом сглаженное значение составило $8,74\text{‰}_{0000}$.

После преобразования тренда, СМУ заболеваемости ЭВНИ на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса за период 2006 - 2019 года составил $5,53\text{‰}_{0000}$ ($\sigma=3,96\text{‰}_{0000}$) медиана заболеваемости - $5,38\text{‰}_{0000}$, межквартильный интервал от $3,07\text{‰}_{0000}$ до $6,33\text{‰}_{0000}$. Заболеваемость имела слабо выраженную тенденцию к росту со среднегодовым темпом прироста 4,8 %. Максимальный показатель - $17,61\text{‰}_{0000}$ зарегистрирован в 2017 году, локальный минимум на уровне $1,59\text{‰}_{0000}$ отмечен в 2007 году.

Периодичность, сезонность. Динамика заболеваемости на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса также как и динамика заболеваемости в РФ и на территориях с высокой интенсивностью имела ярко выраженную 4-летнюю периодичность, а также ежегодные чередования роста и снижения заболеваемости (Рисунок 32).

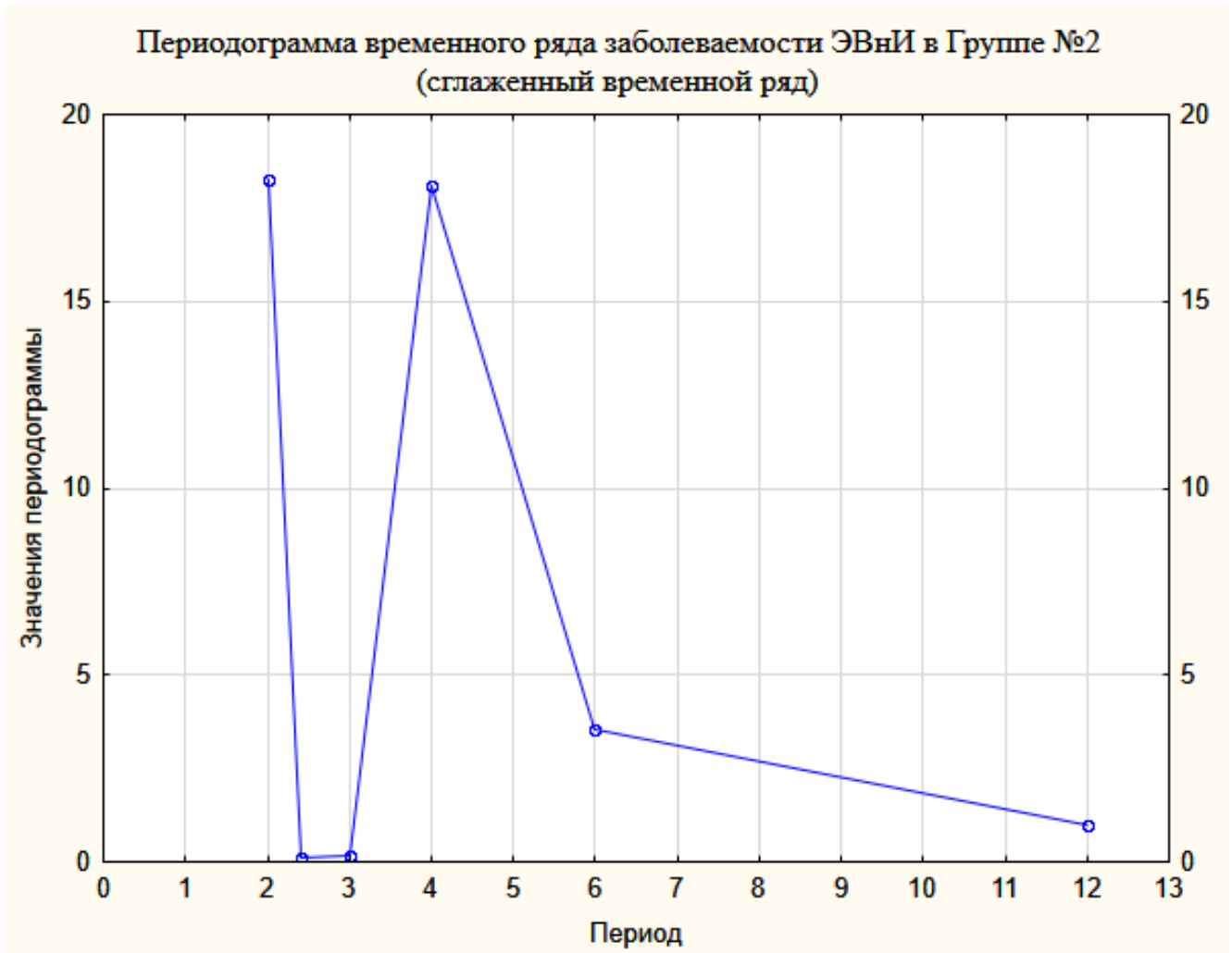


Рисунок 32. Периодограмма заболеваемости энтеровирусными инфекциями на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006 – 2019 гг.).

Прим.: ось ОХ: периодичность в годах, ось ОУ: дисперсия данных на соответствующем периоде.

Очаговость. Общее число зарегистрированных очагов групповой заболеваемости в Группе № 2 с 2006 по 2019 год составило 35, что было в 3,0 раза меньше, чем в Группе №1 за тот же период времени (104 очага). Увеличение числа очагов, как и на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса, соответствовало общим подъёмам заболеваемости (Рисунок 33). За 14-летний период наблюдений (2006-2019 гг.) пять лет (2006г., 2007г., 2011г., 2012г., 2014г.) очаги групповой заболеваемости в Группе № 2 не регистрировали. Их наибольшее число наблюдали в 2017 году - 10.

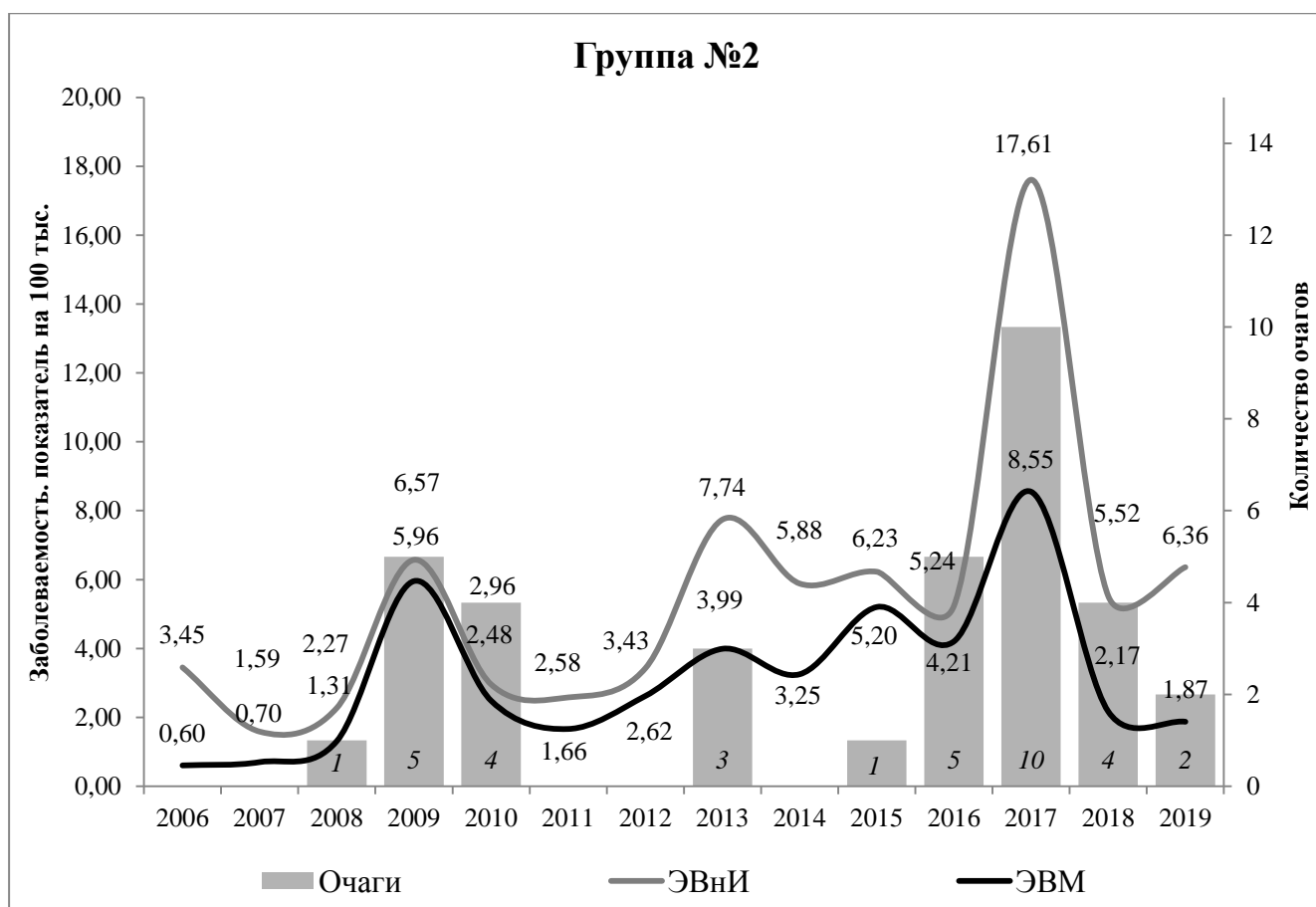


Рисунок 33. Многолетняя динамика и количество эпидемических очагов энтеровирусной (неполио) инфекции и энтеровирусных менингитов на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

Подавляющее большинство очагов регистрировали в августе-сентябре, однако число лиц, вовлечённых в эпидемический процесс, было невелико (238 случаев). За весь период наблюдения доля лиц, вовлечённых в эпидемический процесс групповой заболеваемости, составила лишь 2,8 % от общего числа заболевших. Максимальный показатель зарегистрирован в 2017 году ($0,8^{\circ}/0000$), минимальный – в 2015 г. ($0,04^{\circ}/0000$) (Рисунок 34).

На относительно низком уровне в течение всего периода наблюдения сохранялся показатель общей очаговости, который не превысил 7,21 (Рисунок 35).

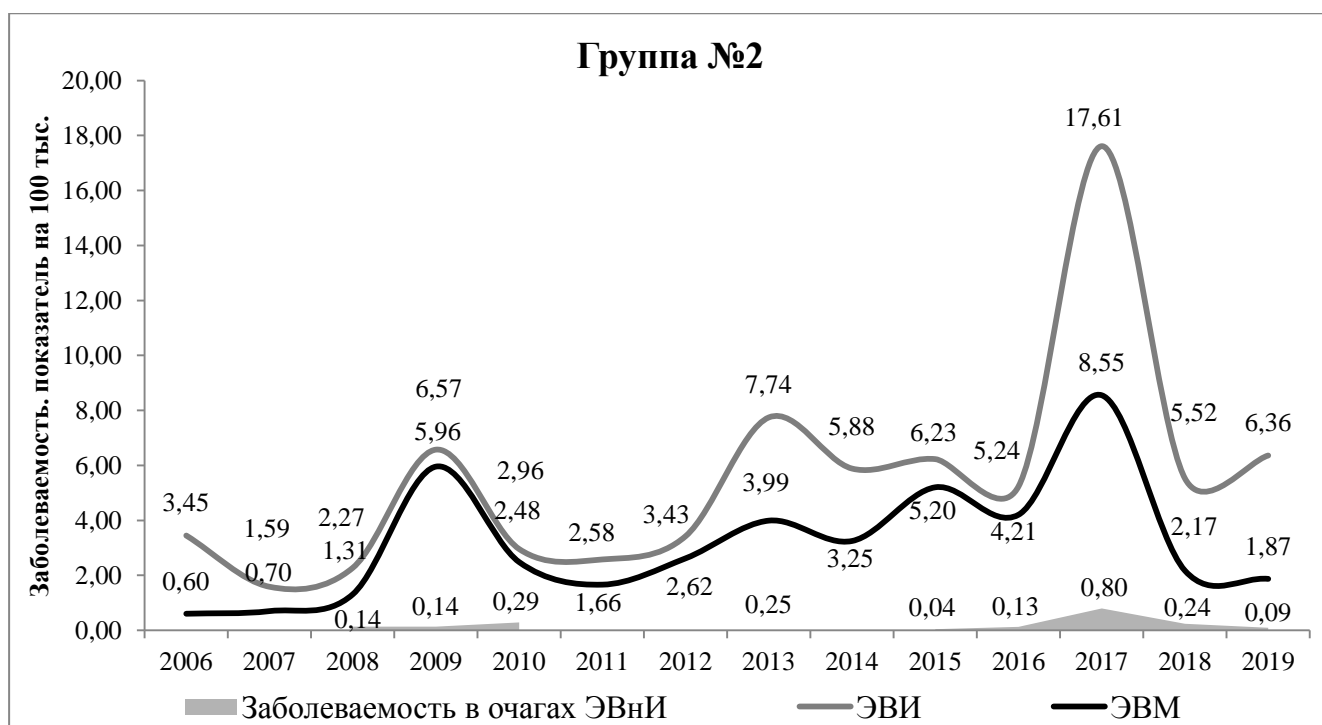


Рисунок 34. Многолетняя динамика общей и очаговой заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс.

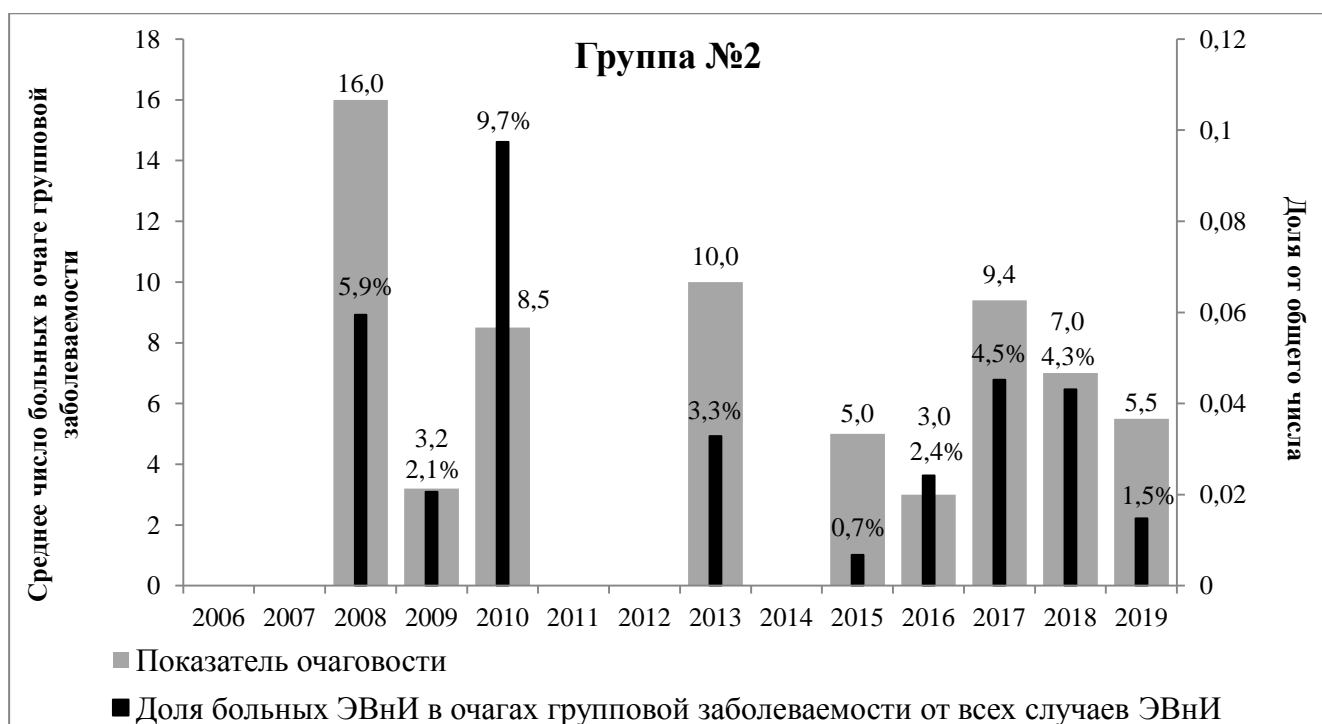


Рисунок 35. Показатель очаговости и доля лиц в очагах групповой заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.).

Возрастная структура. СМУ заболеваемости ЭВНИ среди детей составил 52,24‰ (медиана 45,66‰, межквартильный размах от 31,91‰ до 51,82‰, среднегодовой темп прироста – 8,6 %. Среди взрослых показатель соответствовал 1,02‰ (медиана 0,96‰, межквартильный размах от 0,67‰ до 1,07‰) с темпом прироста - 10,8 %. В 2017 году заболеваемость ЭВНИ среди детей и взрослых также, как на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса, достигла абсолютного максимума - 143,97‰ и 2,71‰ соответственно (Рисунок 36).

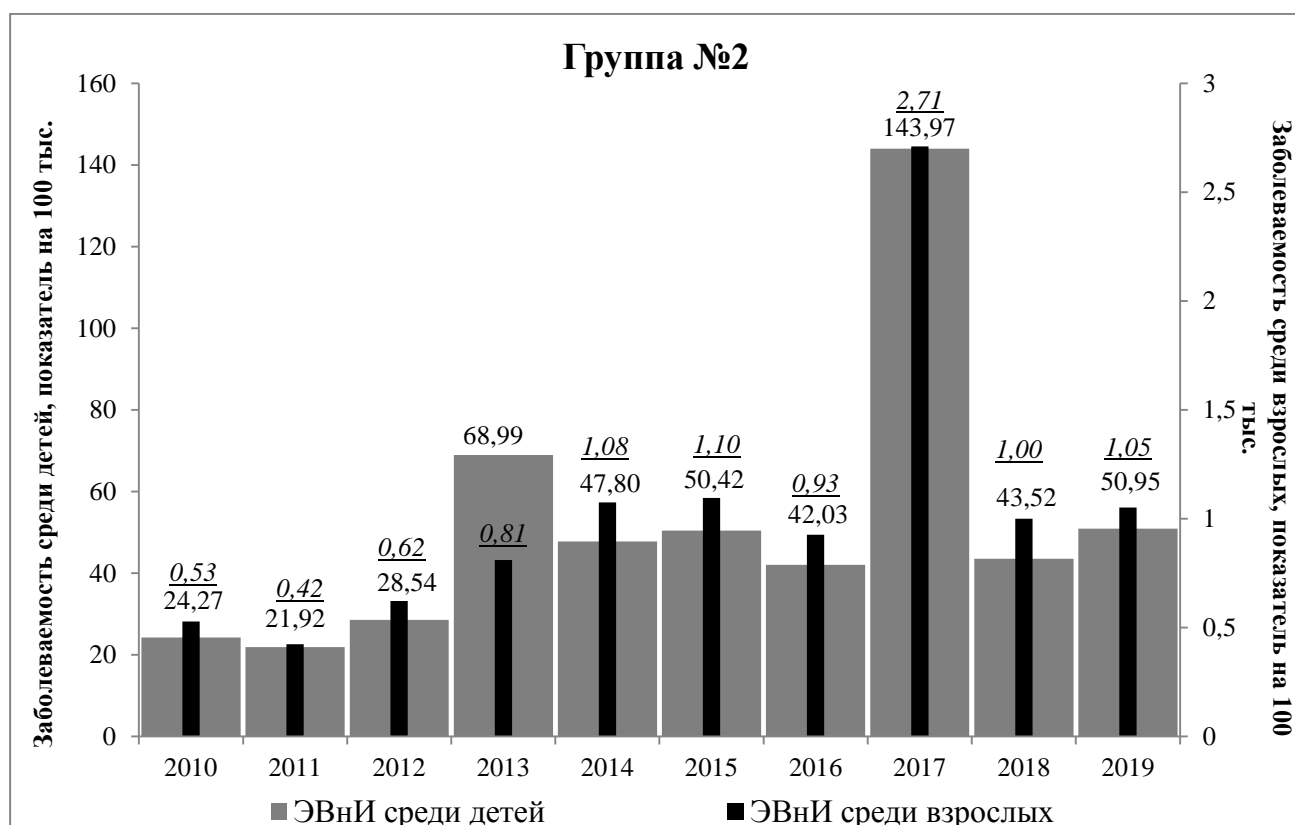
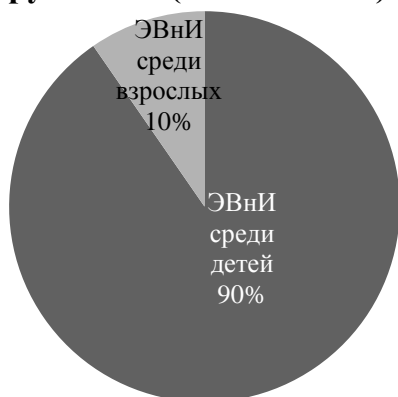


Рисунок 36. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио инфекцией) на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса среди детей и взрослых (2010-2019 гг.), сл./100 тыс.

На долю заболевших лиц среди взрослого населения приходилось больше, чем на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса – 14,0 % против 11,0 % (Рисунок 37), при этом наблюдалось статистически значимые различия между группами по числу заболевших детей и взрослых: $\chi^2 = 128,11$, $df=1$, $p < 0,00001$.

**Структура заболеваемости ЭВНИ
в Группе №1 (2010-2019 гг.)**



**Структура заболеваемости ЭВНИ
в Группе №2 (2010-2019 гг.)**

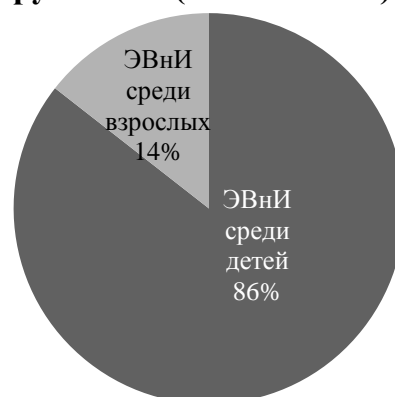


Рисунок 37 Возрастная структура заболевших лиц в Группе №1 и в Группе №2 (2010-2019 гг.)

ЭВНИ среди детей выявляли в среднем в 6,0 раз чаще, чем среди взрослых. Максимальная разница в 10,0 раз произошла в 2013 году, когда на долю детей пришлось 90,6 % случаев ЭВНИ. В остальные годы доля ЭВНИ среди детей в возрастной структуре заболевших оставалась на уровне 84,9 %±1,3 % (Рисунок 38).

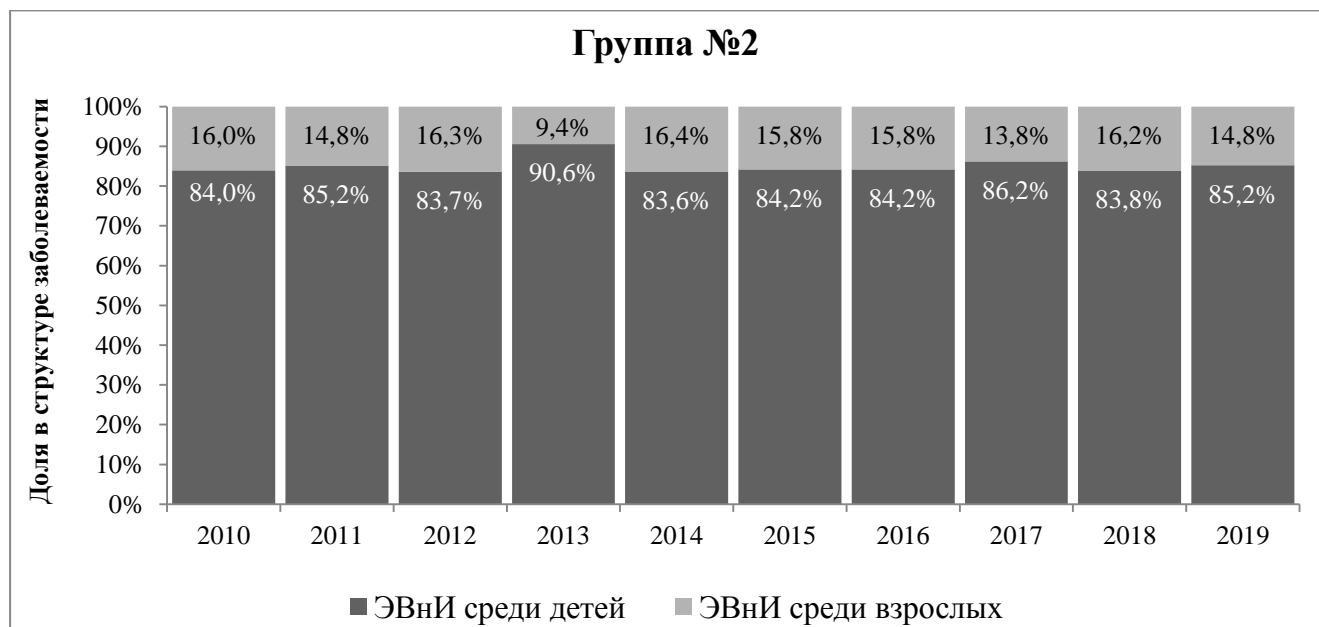


Рисунок 38 Возрастная структура заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2010-2019 гг.).

Рассчитанный за период наблюдения относительный риск возникновения ЭВНИ среди детей был в 51,0 раз выше, чем среди взрослых (RR=51,336, 95 % ДИ от 41,875 до 62,935).

В целом на территориях с низкими показателями заболеваемости ЭВНИ риск заболеть среди детского населения относительно взрослого населения, был статистически значимо ниже, чем на территориях с высоким уровнем (RR=76,974, 95 % ДИ от 66,239 до 89,449). Относительный риск возникновения ЭВНИ среди детей между группами, соответственно, был в 3,7 раза выше (RR=3,674, 95 % ДИ от 3,357 до 4,021).

Заболеваемость энтеровирусным менингитом. Временной ряд заболеваемости ЭВМ в Группе №2 был стационарным: U-тест $p=0,074$, t-тест $p=0,096$ и не имел выраженных трендов к росту или снижению. СМУ составил $3,29\text{‰}$, темп прироста - 11,2 %. Максимальный подъём пришелся на 2017 год ($8,55\text{‰}$), при этом если в 2009 году ЭВМ в структуре клинических форм ЭВНИ составлял 90,6 %, то в 2017 году показатель снизился до 48,6 % (Рисунок 37).

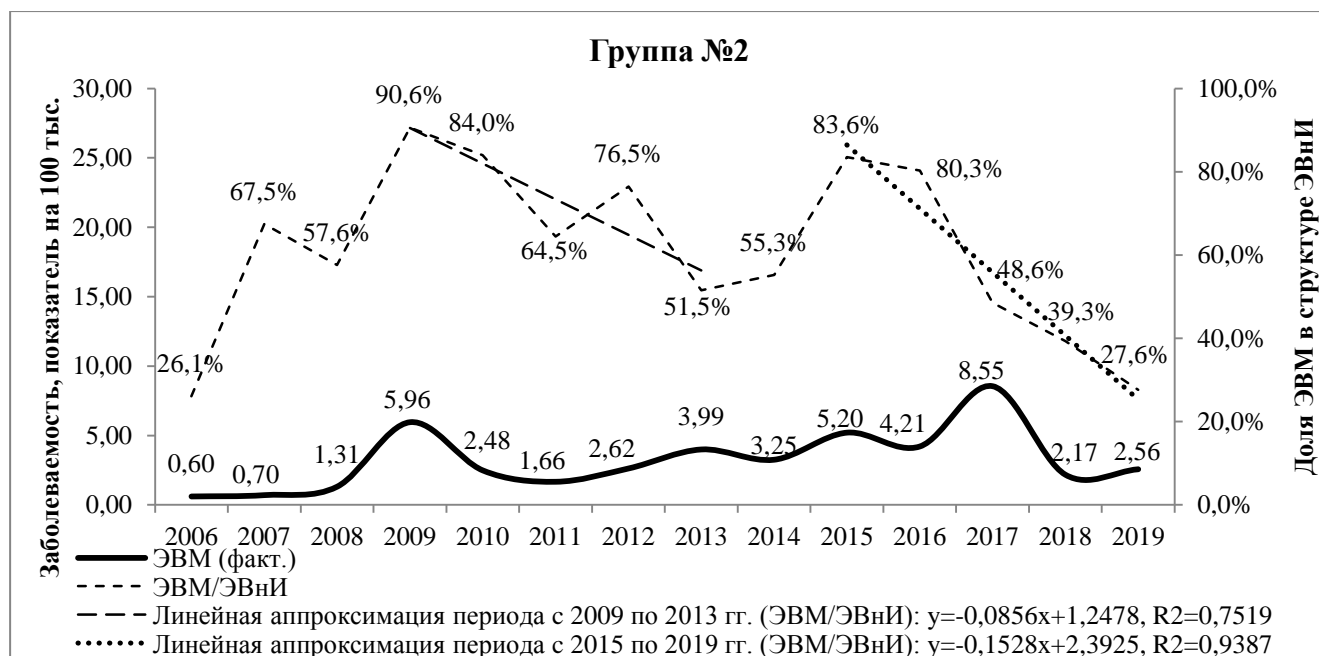


Рисунок 37. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006-2019 гг.), сл./100 тыс. и доля лиц с энтеровирусным менингитом в структуре энтеровирусной (неполио) инфекции в %.

Доля ЭВМ в структуре клинических форм в зависимости от периодов наблюдения претерпевала значительные изменения, варьируя от 26,1 % до 90,6 % и дважды приобретала выраженный тренд к снижению. Первый эпизод произошел с 2009 по 2013 гг. со среднегодовым отрицательным темпом прироста – 9,5 %, второй - с 2009 по 2013 гг. с аналогичным в – 16,2 %. В 2019 году доля ЭВМ в структуре клинических форм ЭВНИ достигла минимума, составила 27,6 % и впервые приблизилась к минимальному показателю 2006 года – 26,1 %.

Также имела место 4-летняя периодичность, происходящая на фоне ежегодных чередований роста и снижения заболеваемости (Рисунок 38).

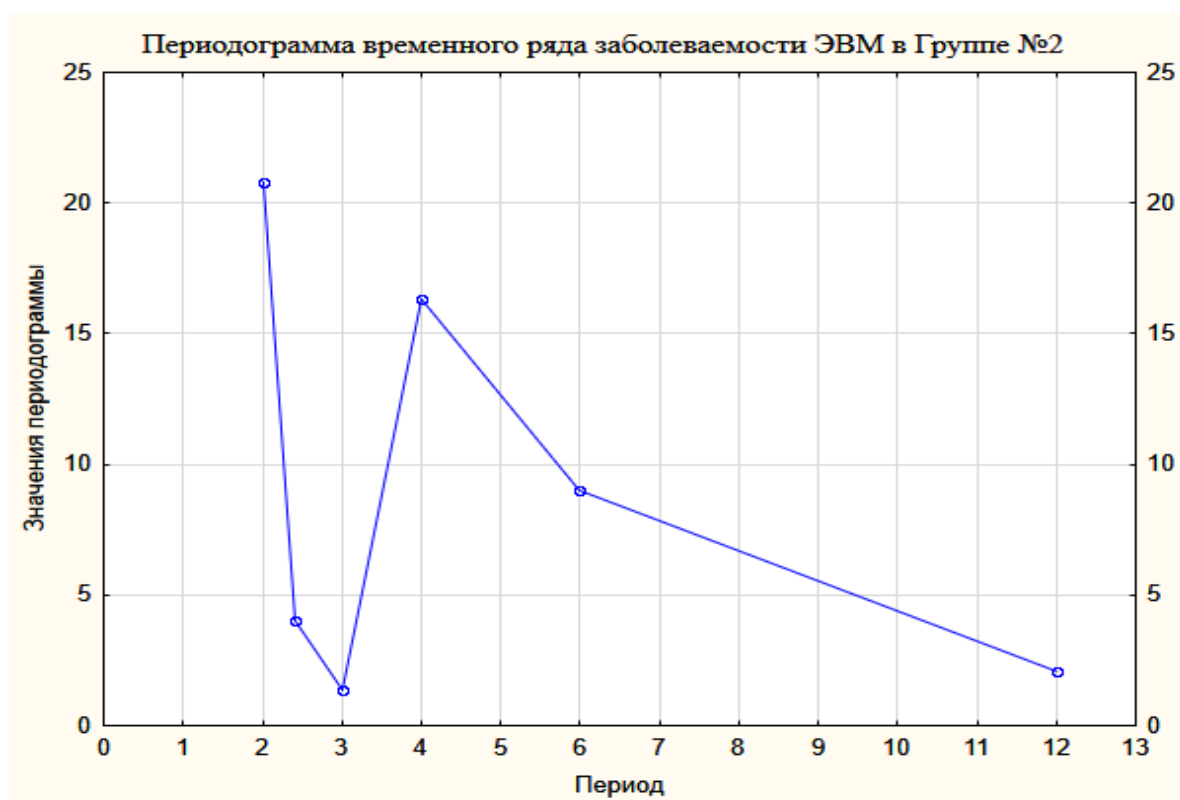


Рисунок 38. Периодограмма заболеваемости энтеровирусным менингитом на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (2006 – 2019 гг.).

Прим.: ось OX: периодичность в годах, ось OY: дисперсия данных на соответствующем периоде.

В 2013 году был зарегистрирован подъём заболеваемости ЭВМ, однако его уровень остановился на $3,99\text{‰}$, что было ниже аналогичного показателя по РФ на 20,2 %.

Относительный риск заболеть ЭВМ в Группе №2 был в 2,8 раз ниже, чем в Группе №1 (RR= 2,764, 95 % ДИ от 2,445 до 3,124), однако, он оказался в 1,3 раза выше, чем в среднем по РФ (RR= 1,340, 95 % ДИ от 1,207 до 1,488), что является неблагоприятным фактором и может свидетельствовать о скрытом эпидемическом процессе, вероятно, связанным с существенным недоучетом легких форм ЭВНИ.

Таким образом, проведенный нами анализ данных о проявлениях эпидемического процесса ЭВНИ на территориях с различной степенью интенсивности, позволил установить существенные отличия в основных показателях (Таблица 17).

Таблица 17

Основные количественные характеристики эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем интенсивности (Группа № 1 и Группа № 2)

Показатель	Российская Федерация	Территории с высоким уровнем	Территории с низким уровнем
Средний многолетний показатель заболеваемости (°/0000)	8,09	26,15	5,53
Темп прироста заболеваемости (%)	+ 17,7	+ 31,1	+ 4,8
Максимальный показатель заболеваемости (°/0000)	16,32	59,35	17,61
Минимальный показатель заболеваемости (°/0000)	2,91	4,38	1,59
Периодичность (лет)	4	4	4
Сезонность	август-сентябрь	август-сентябрь	август-сентябрь
Число лиц из очагов групповой заболеваемости (абс.)	9845	3094	238
Доля лиц из очагов групповой заболеваемости (%)	7,6	15,2	2,8
Максимальный показатель заболеваемости в очагах (°/0000)	1,66	17,97	0,8
Минимальный показатель заболеваемости в очагах (°/0000)	0,13	0,07	0,04

Окончание Таблицы 17

Показатель	Российская Федерация	Территории с высоким уровнем	Территории с низким уровнем
Число очагов (абс.)	492	104	35
Показатель общей очаговости	20,01	34,38	7,21
Доля детского населения (%)	89,0	90,4	85,6
Средний многолетний показатель заболеваемости среди детского населения (°/0000)	70,83	204,83	52,24
Темп прироста заболеваемости среди детского населения (%)	+ 18,7	+ 31,6	+ 8,6
Максимальный показатель заболеваемости среди детского населения (°/0000)	142,12	479,41	143,97
Средний многолетний показатель заболеваемости при ЭВМ (°/0000)	2,50	9,13	3,29
Темп прироста/убыли заболеваемости при ЭВМ (%)	-0,3	+ 2,8	+ 11,2
Максимальный показатель заболеваемости при ЭВМ (°/0000)	5,0	18,48	8,55
Периодичность при ЭВМ (лет)	4	2	4

Несмотря на то, что основные параметры, характеризующие проявления эпидемического процесса ЭВНИ на двух территориях имели сходную динамику (положительные темпы прироста, общую 4-х летнюю периодичность, летне-осеннюю сезонность, долю вовлеченного в эпидемический процесс детского населения), прослеживались различия в показателях, отражающих интенсивность эпидемического процесса. Наряду с превышением показателей на неблагополучных территориях относительно благополучных территорий по большинству из них: общие показатели (СМУ - в 4,7 раза, темп прироста - в 6,5 раз, максимальный показатель - в 3,4) и показатели среди детского населения СМУ - в 3,9; темп прироста - в 3,7; СМУ по ЭВМ - в 2,8). Одним из значимых признаков эпидемического неблагополучия явилась 2-х летняя периодичность по ЭВМ.

Выявлены также значимые различия в показателях очаговости, таких как, доля заболевших в очагах с неединичными случаями в структуре заболеваемости

в целом (превышение в 5,4 раз) и показатель общей очаговости (превышение в 22,5 раз). Вышеизложенное позволяет сделать вывод о существенном влиянии на общий уровень заболеваемости ЭВНИ вспышечной заболеваемости.

На территориях с низким уровнем заболеваемости несмотря на общую положительную тенденцию, наблюдались высокие показатели заболеваемости ЭВМ. Так, по РФ доля лиц с ЭВМ в общей структуре ЭВНИ составила 30,9 %, на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса - 34,9 %, на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса – 59,5 %. Исходя из этого, можно сделать вывод, что на «благополучных» территориях имеет место существенный недоучет случаев ЭВНИ, а регистрация заболеваемости предусматривает учет только тяжелых клинических форм. СМУ заболеваемости ЭВМ в этой группе в 1,32 раза превысил среднероссийский уровень ($3,29\text{‰}$ против $2,50\text{‰}$), имел выраженную тенденцию к росту (11,2 %) относительно стабилизации показателя по РФ (-0,3 %).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили сделать вывод о необходимости разработки дифференцированных подходов к оценке эпидемиологической ситуации по заболеваемости ЭВНИ. На территориях с низким уровнем регистрации ЭВНИ необходим поиск независимых критериев оценки на основе детального изучения биологического фактора эпидемического процесса, на территориях с высоким уровнем заболеваемости проведение качественной эпидемиологической диагностики и своевременных эффективных противоэпидемических и профилактических мероприятий.

ГЛАВА 4 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ СЕРОТИПОВ ЭНТЕРОВИРУСОВ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА ТЕРРИТОРИЯХ

В ряде работ зарубежных авторов отмечено, что различные серотипы энтеровирусов с неодинаковой частотой могут выделяться от больных на фоне спорадической и вспышечной заболеваемости [260]. Кроме того, в ходе наблюдения за развитием эпидемического процесса ЭВНИ в США (1970-1983 гг.) авторы констатировали постоянное изменение ее этиологической структуры [73, 260]. Отечественные ученые наблюдали изменение активности некоторых энтеровирусов даже в пределах одного сезона и связывали это со сменой циркуляции отдельных серотипов [35]. Однако, изучению роли актуальных представителей НПЭВ в развитии заболеваемости на примере территорий с высоким и низким уровнем интенсивности эпидемического процесса, а также в разрезе отдельных клинических форм и возрастной структуры заболевших уделялось недостаточное внимание, чему посвящена представленная глава.

4.1 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с различной интенсивностью эпидемического процесса

Как показал анализ данных официальной статистики (2006-2019 гг.) неблагополучными по заболеваемости ЭВНИ территориями Уральского Федерального округа и Западной Сибири явились Томская, Тюменская, Свердловская области и ХМАО. Относительно благополучной эпидемиологической обстановкой характеризовались Курганская, Омская, Кемеровская, Новосибирская и Челябинская области.

С учетом существенных отличий в показателях заболеваемости на изучаемых территориях нами проведен анализ циркуляции отдельных серотипов энтеровирусов (2017-2019 гг.) в разрезе этих территорий.

Для определения пейзажа энтеровирусов изучены пробы биологических материалов от пациентов (ликвор, кровь, фекалии, смывы из носоглотки) с диагнозом ЭВНИ (1148 человек), и контактных лиц из очагов (38 человек) – всего 1529 проб от 1186 человек. В числе клинических форм регистрировали энтеровирусную герпангину, энтеровирусный гастроэнтерит, энтеровирусный серозный менингит, энтеровирусный стоматит, энтеровирусный фарингит, энтеровирусную инфекцию по типу ОРВИ, энтеровирусную экзантему. Отмечали сочетанные формы: энтеровирусная герпангина с экзантемой, энтеровирусный стоматит с экзантемой, энтеровирусный фарингит с экзантемой. В ряде случаев информация о точном диагнозе пациента в амбулаторной карте отсутствовала, в связи с чем, имела место общая формулировка «энтеровирусная инфекция». Вакцинные вирусные штаммы были выделены из кишечника детей до двух лет, в 2-х случаях – у контактировавших с больными ЭВНИ лиц (Poliovirus 1 Sabin и Poliovirus 3 Sabin), в 1-м - при энтеровирусной экзантеме (Poliovirus 1 Sabin), как вирусологическая находка.

В целом за 2017- 2019 гг. количество штаммов НПЭВ, выделенных от больных и контактных, с определением серотипа составило 1183 (1147 больных ЭВНИ и 36 контактных лиц). В их числе 639 – из эпидемических очагов с 1-2 случаями (спорадическая заболеваемость) и 544 – из очагов с 3 и более случаями (групповая заболеваемость). Генотипирование НПЭВ проводили методом сравнения участков генома (гены VP1 и VP2, структурная область P1), кодирующих структурные белки (1A-1B и 1D), а также 5'-нетранслируемой области (5'UTR), полученных в результате сэнгеровского секвенирования, с референсными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank.

Результаты исследований, проведенных на территориях 9 изучаемых субъектов РФ, выявили циркуляцию энтеровирусов, отнесенных к 35 серотипам,

в их числе Enterovirus A составили 42,0 % (от 501 человека), Enterovirus B – 56,0 % (668), Enterovirus C – 2,0 % (17) (Рисунок 39).

Enterovirus C, помимо вакцинных вирусных штаммов, описанных выше, были представлены вирусами Coxsackievirus A19 (1), Coxsackievirus A21 (10) Coxsackievirus A22 (2) и Enterovirus C96 (1).

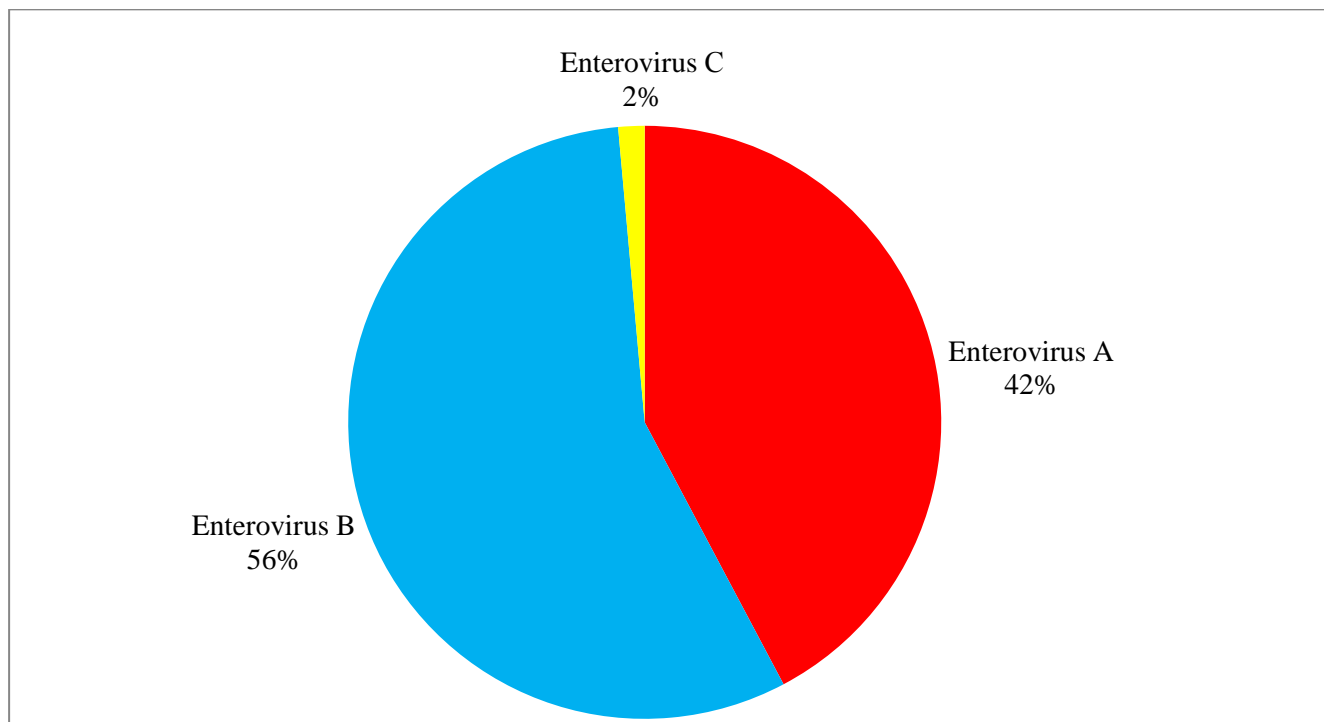


Рисунок 39. Видовой состав энтеровирусов, циркулирующих (2017-2019 гг.) на территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири (%)

Преобладающими серотипами на изучаемых территориях были Coxsackievirus A6 и Echovirus E30 (Рисунок 40).

В группе территорий с высоким уровнем заболеваемости, их доля в общей структуре составляла 53,2 % (Coxsackievirus A6 - 209 (27,5 %) и Echovirus E30 – 196 (25,8 %), с низким – 52,0 % (115 (27,1 %) и 106 (24,9 %), соответственно). В Новосибирской области на протяжении трех лет не было зарегистрировано ни одного случая ЭВНИ с участием Coxsackievirus A6. (Таблица 18). Именно в этой области за изучаемый период времени были одни из самых низких показателей заболеваемости: 8,44‰/0000 в 2017 г., 5,73‰/0000 в 2018 г. и 6,44‰/0000 в 2019 гг.

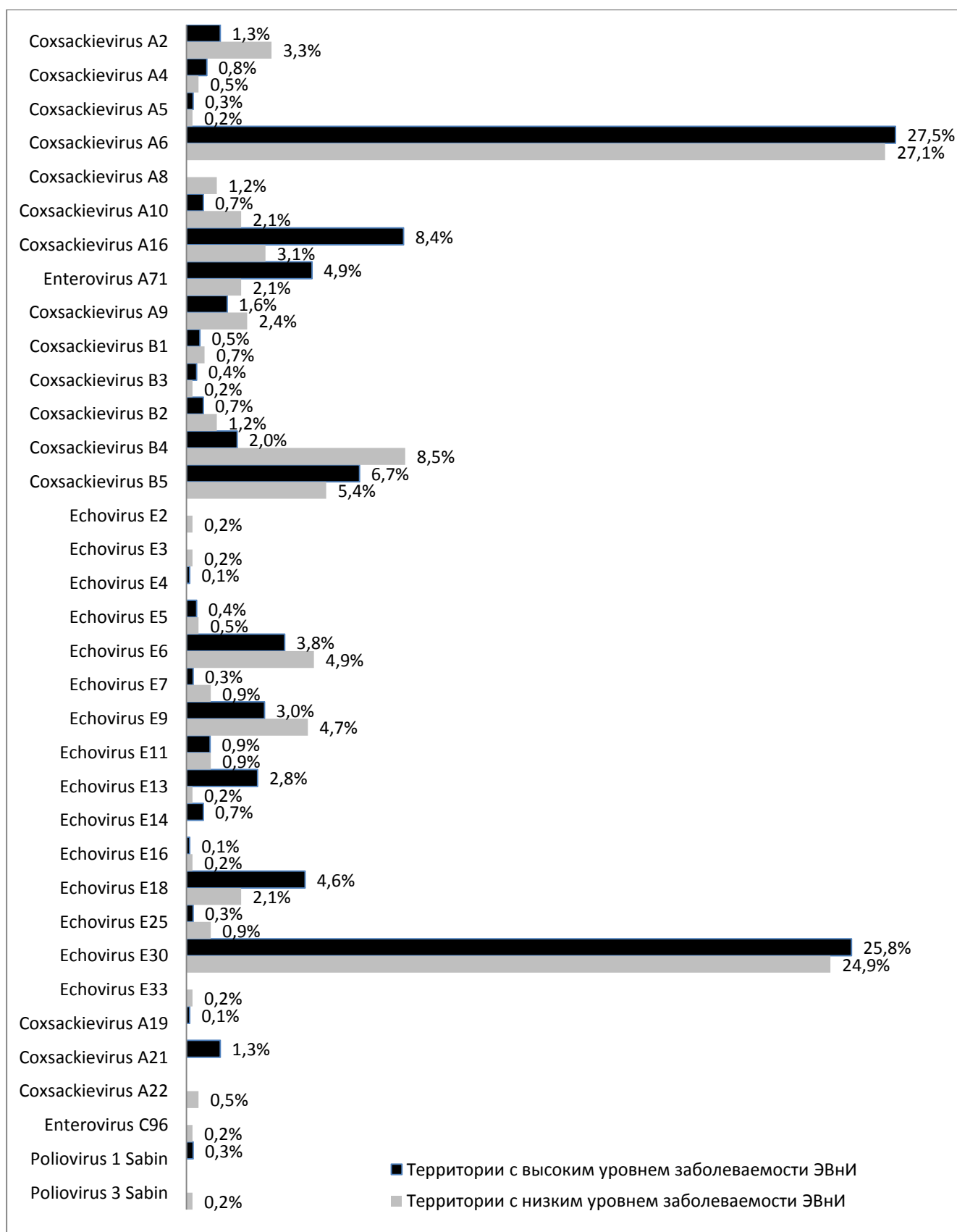


Рисунок 40. Частота встречаемости отдельных серотипов энтеровирусов у больных и контактных лиц на территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири (сл./100 тыс.).

**Серотипы энтеровирусов на отдельных территориях
Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017-2019 гг.**

Вид (серотип)	Территории с высоким уровнем заболеваемости ЭВНИ					Территории с низким уровнем заболеваемости ЭВНИ						Всего
	Свердловская область	Томская область	Тюменская область	ХМАО	Итого	Кемеровская область	Курганская область	Новосибирска я область	Омская область	Челябинская область	Итого	
	Абс.					Абс.						
Enterovirus A	125	21	41	146	333	64	55	1	14	34	168	501
Coxsackievirus A2	3	2	4	1	10	12	1		1		14	24
Coxsackievirus A4		4	1	1	6		1			1	2	8
Coxsackievirus A5	1		1		2		1				1	3
Coxsackievirus A6	73	11	24	101	209	42	40		5	28	115	324
Coxsackievirus A8							2		3		5	5
Coxsackievirus A10		2	1	2	5	1	4	1	3		9	14
Coxsackievirus A16	48	1	9	6	64	2	6		1	4	13	77
Enterovirus A71		1	1	35	37	7			1	1	9	46
Enterovirus B	167	65	86	97	415	24	54	77	61	37	253	668
Coxsackievirus A9	1	4	1	6	12	1	3	1	4	1	10	22
Coxsackievirus B1		2	2		4				2	1	3	7
Coxsackievirus B3		1		2	3				1		1	4
Coxsackievirus B2		4	1		5	2			1	2	5	10
Coxsackievirus B4	3	3	1	8	15	7	7	10	9	3	36	51
Coxsackievirus B5	7	27	2	15	51	1	2	7	10	3	23	74
Echovirus E2									1		1	1
Echovirus E3									1		1	1
Echovirus E4		1			1							1
Echovirus E5			1	2	3			2			2	5
Echovirus E6	21		1	7	29	1	2	15	2	1	21	50
Echovirus E7	2				2		1	2		1	4	6
Echovirus E9	19	2		2	23	2	3	5	7	3	20	43
Echovirus E11		3		4	7			1	2	1	4	11
Echovirus E13	21				21	1					1	22
Echovirus E14	2	2		1	5							5
Echovirus E16			1		1				1		1	2
Echovirus E18	7	2	15	11	35	1	1	2	3	2	9	44
Echovirus E25		1		1	2	1			2	1	4	6
Echovirus E30	84	13	61	38	196	7	34	32	15	18	106	302
Echovirus E33					0		1				1	1
Enterovirus C	1	1	0	11	13	2	0	1	1	0	4	17
Coxsackievirus A19				1	1							1
Coxsackievirus A21	1			9	10							10
Coxsackievirus A22						2					2	2
Enterovirus C96								1			1	1
Poliovirus 1 Sabin		1		1	2							2
Poliovirus 3 Sabin									1		1	1
Всего	293	87	127	254	761	90	109	79	76	71	425	1186

В группе территорий с высоким уровнем заболеваемости представители Enterovirus A составили 43,8 % (333 штаммов), Enterovirus B - 54,5 % (415). В группе территорий с низким уровнем заболеваемости Enterovirus B регистрировали чаще – 59,1 % (253).

В Свердловской области преобладающим генотипом был Echovirus E30 – 28,7 % (84), на втором месте Coxsackievirus A6 – 24,9 % (73), на третьем Coxsackievirus A16 – 16,4 % (48). В Тюменской области лидирующую позицию занимал Echovirus E30 - 48,0 % (61), Coxsackievirus A6 встречался в 18,9 % случаях (24), Echovirus E18 – в 11,8 % (15). В Томской области преобладали Coxsackievirus B5 – 31,0 % (27), Echovirus E30 – 14,9 % (13), Coxsackievirus A6 занял третье ранговое место – 12,6 % (11). В ХМАО Coxsackievirus A6 встречался в 39,8 % случаев (101). Кроме него значительные позиции занимал Echovirus E30 – 15,0 % (38) и Enterovirus A71 – 13,8 % (35).

На территориях с низким уровнем заболеваемости в Новосибирской области Echovirus E30 встречался в 40,5 % случаях (32), Echovirus E6 – в 19,0 % (15), Coxsackievirus B4 – в 12,7 % (10). В Омской Echovirus E30 – в 19,7 % (15), Coxsackievirus B5 – в 13,2 % (10) и Coxsackievirus B4 – в 11,8 % (9). В Курганской Coxsackievirus A6 – в 36,7 % (40), Echovirus E30 – в 31,2 % (34), Coxsackievirus B4 – в 6,4 % (7), в Кемеровской Coxsackievirus A6 – в 46,7 % (42) и Coxsackievirus A2 – в 13,3 % (12), в Челябинской Coxsackievirus A6 – в 39,4 % (28) и Echovirus E30 – в 20,0 % (18).

Таким образом, на территориях с высоким уровнем заболеваемости в этиологической структуре существенное место занимали серотипы Coxsackievirus A6, Echovirus E30, Coxsackievirus A16, Echovirus E18, Coxsackievirus B5 и Enterovirus A71. На территориях с низким уровнем заболеваемости преобладали Echovirus E30, Coxsackievirus A6, Coxsackievirus A2, Coxsackievirus B4, Coxsackievirus B5, Echovirus E6. Отдельные серотипы – Coxsackievirus A19, Coxsackievirus A21, Echovirus E4, Echovirus E14, встречались только на неблагополучных территориях. Напротив, Coxsackievirus A8, Coxsackievirus A22, Echovirus E2, Echovirus E3, Echovirus E33 циркулировали на

территориях с низкими показателями заболеваемости. Это позволило сделать вывод о том, что на территориях с различной степенью интенсивности эпидемического процесса ЭВНИ, несмотря на общее доминирование двух серотипов Coxsackievirus A6 и Echovirus E30, наблюдались отличия в этиологической структуре.

На следующем этапе работы был проведен анализ циркуляции НПЭВ в очагах с числом случаев 3 и более. Всего идентифицировано 544 представителей. На территориях с высоким уровнем заболеваемости – 435 штаммов (17 серотипов), с низким уровнем – 109 (5 серотипов). В таких областях, как Томская (высокий уровень) и Новосибирская (низкий уровень) количество случаев групповой заболеваемости ЭВНИ за изучаемый период времени (2017-2019 гг.) зарегистрировано не было.

Лидирующие позиции в очагах групповой заболеваемости на территориях с высокими показателями заболеваемости ЭВНИ при сопоставимой частоте встречаемости делили два представителя - Coxsackievirus A6 – 35,9 % (156) и Echovirus E30 – 28,0 % (122) (Рисунок 41).

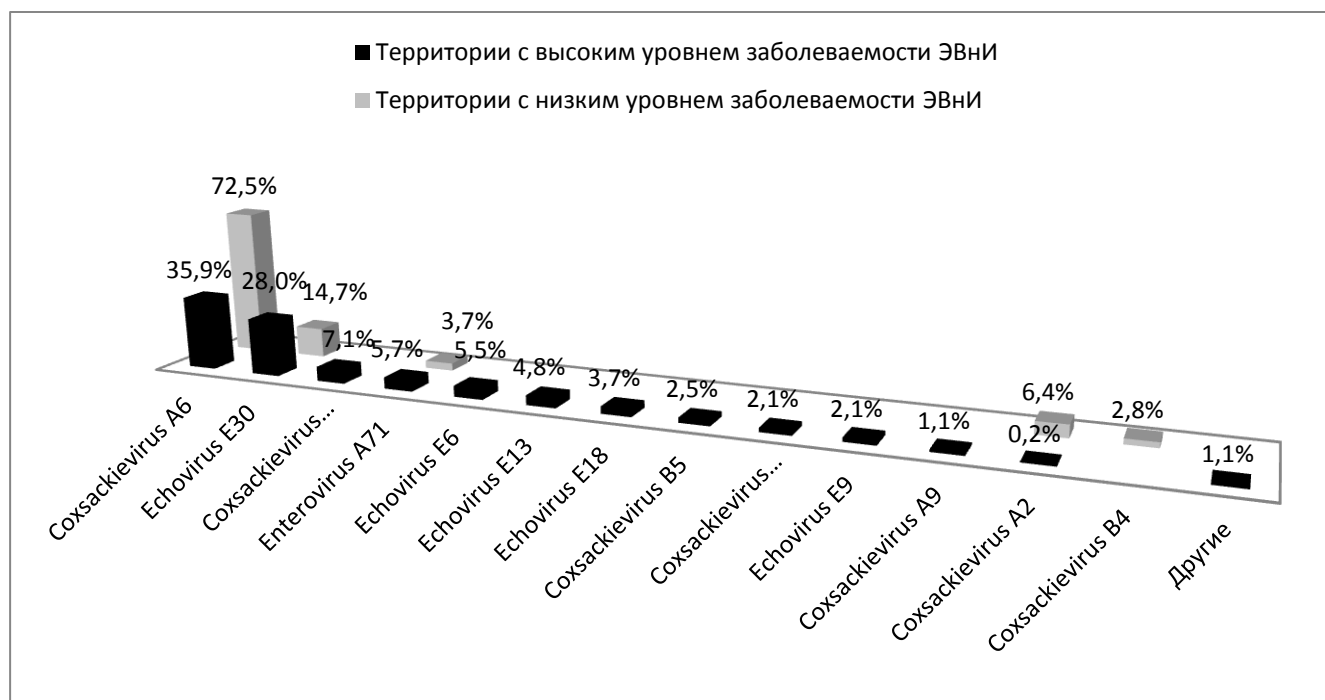


Рисунок 41. Удельный вес отдельных серотипов энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости (с 3-мя и более случаями) на территориях УФО и Западной Сибири в 2017-2019 гг.

На территориях с «благополучной» эпидемиологической обстановкой ведущим серотипом при групповой заболеваемости был Coxsackievirus A6 – 72,5 % (79), который с большим отрывом опережал остальные серотипы, в том числе серотип Echovirus E30 – 16 (14,7 %). Следовательно, на территориях с низким уровнем заболеваемости серотип Echovirus E30, преимущественно регистрировали при спорадической (единичной) заболеваемости или в очагах, не превышающих 2 случая.

Спектр энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости на благополучных территориях кроме серотипов Coxsackievirus A6 и Echovirus E30 также был представлен еще 9-ю распространёнными серотипами – Coxsackievirus A9, Coxsackievirus B5, Echovirus E6, Echovirus E9, Echovirus E13, Echovirus E18, Coxsackievirus A16, Coxsackievirus A21, Enterovirus A71 (Таблица 19).

Таблица 19

Серотипы энтеровирусов, выделенных в очагах групповой заболеваемости (3 и более случая) на отдельных территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017-2019 гг.

Вид (генотип)	Территории с высоким уровнем заболеваемости ЭВНИ					Территории с низким уровнем заболеваемости ЭВНИ						Всего
	Свердловская область	Томская область	Тюменская область	ХМАО	Итого	Кемеровская область	Курганская область	Новосибирская область	Омская область	Челябинская область	Итого	
	Абс.					Абс.						
Enterovirus A	74		17	123	214	38	34		5	13	90	304
Coxsackievirus A2				1	1	7					7	8
Coxsackievirus A4				1	1						0	1
Coxsackievirus A6	50		11	95	156	28	34		5	12	79	235
Coxsackievirus A16	24		6	1	31						0	31
Enterovirus A71				25	25	3				1	4	29
Enterovirus B	113		41	57	211	0	7		0	12	19	230
Coxsackievirus A9				5	5						0	5
Coxsackievirus B4					0					3	3	3

Окончание Таблицы 19

Вид (генотип)	Территории с высоким уровнем заболеваемости ЭВНИ					Территории с низким уровнем заболеваемости ЭВНИ						Всего
	Свердловская область	Томская область	Тюменская область	ХМАО	Итого	Кемеровская область	Курганская область	Новосибирская область	Омская область	Челябинская область	Итого	
	Абс.					Абс.						
Coxsackievirus B5	2		1	8	11						0	11
Echovirus E5				1	1						0	1
Echovirus E6	20			4	24						0	24
Echovirus E9	7			2	9						0	9
Echovirus E11				1	1						0	1
Echovirus E13	21				21						0	21
Echovirus E14				1	1						0	1
Echovirus E18			6	10	16						0	16
Echovirus E30	63		34	25	122		7			9	16	138
Enterovirus C	0		0	10	10	0	0		0	0	0	10
Coxsackievirus A19				1	1						0	1
Coxsackievirus A21				9	9						0	9
Всего	187		58	190	435	38	41		5	25	109	544

Доля этих 11 серотипов в развитии эпидемического неблагополучия на территориях с высоким уровнем заболеваемости составила 89,8 %, следовательно, именно они определяли ее высокий уровень.

На территориях с низким уровнем заболеваемости очаги групповых случаев ЭВНИ формировали 5 серотипов: Coxsackievirus A6 – 72,5 % (79), Echovirus E30 – 14,7 % (16) Coxsackievirus A2 – 6,4 % (7), Enterovirus A71 - 3,7 % (4) и Coxsackievirus B4 - 2,8 % (3). Их суммарная доля в структуре циркулирующих возбудителей составила 66,0 %. Отметим, что генотипы Coxsackievirus A16, Echovirus E6, Echovirus E13, Echovirus E18, Coxsackievirus B5, Coxsackievirus A21, Echovirus E9, Coxsackievirus A9, преобладавшие на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса не участвовали в развитии групповой заболеваемости на территориях с низким уровнем.

Таким образом, на территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири с 2017 по 2019 гг. не зависимо от интенсивности эпидемического процесса, этиологическую структуру ЭВНИ определяли серотипы, формирующие очаги групповой заболеваемости (3 и более случая). Ведущими представителями были Coxsackievirus A6 и Echovirus E30. Серотип Coxsackievirus A6 на изучаемых территориях преимущественно вызывал групповые случаи заболеваний, Echovirus E30 на территориях с низким уровнем интенсивности – спорадические случаи.

4.2 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции при различных клинических формах

Анализ серотипов энтеровирусов при различных клинических формах ЭВНИ проведен на основе исследования биоматериала от 1147 больных и 36 контактных лиц. В структуре НПЭВ у контактных лиц преобладал серотип Enterovirus A71 (27,78 %), у больных - Coxsackievirus A6 (27,64 %) и Echovirus E30 (25,89 %) (Таблица 20).

Таблица 20

Серотипы энтеровирусов, выделенные от пациентов на территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017-2019 гг.

Возбудитель	Больные лица		Контактные лица	
	абс	%	абс	%
Enterovirus A	483	42,11	18	50
Coxsackievirus A6	317	27,64	7	19,44
Enterovirus A71	36	3,14	10	27,78
Coxsackievirus A10	14	1,22		
Coxsackievirus A16	77	6,71		
Coxsackievirus A5	3	0,26		
Coxsackievirus A2	23	2,01	1	2,78
Coxsackievirus A8	5	0,44		

Окончание Таблицы 20

Возбудитель	Больные лица		Контактные лица	
	абс	%	абс	%
Coxsackievirus A4	8	0,7		
Enterovirus B	652	56,84	16	44,44
Coxsackievirus A9	22	1,92		
Coxsackievirus B1	7	0,61		
Coxsackievirus B3	4	0,35		
Coxsackievirus B2	10	0,87		
Coxsackievirus B4	49	4,27	2	5,56
Coxsackievirus B5	72	6,28	2	5,56
Echovirus E2	1	0,09		
Echovirus E3			1	2,78
Echovirus E4	1	0,09		
Echovirus E5	5	0,44		
Echovirus E6	45	3,92	5	13,89
Echovirus E7	6	0,52		
Echovirus E9	43	3,75		
Echovirus E11	11	0,96		
Echovirus E13	22	1,92		
Echovirus E14	5	0,44		
Echovirus E16	2	0,17		
Echovirus E18	43	3,75	1	2,78
Echovirus E25	6	0,52		
Echovirus E30	297	25,89	5	13,89
Echovirus E33	1	0,09		
Enterovirus C	12	1,05	2	5,56
Coxsackievirus A22	1	0,09	1	2,78
Coxsackievirus A21	10	0,87		
Coxsackievirus A19			1	2,78
Enterovirus C96	1	0,09		
Всего:	1147		36	

Вероятно, это связано с тем, что у контактных лиц исследовались в основном пробы фекалий без учета клинических форм ЭВНИ, преобладающих в очаге. Возбудители инфекции у заболевших лиц отнесены к 31 серотипу, у контактных лиц – к 11 (Таблица 21).

Серотипы энтеровирусов, выделенных от больных ЭВНИ и контактных лиц
на территориях Уральского Федерального округа
и Западной Сибири в 2017-2019 гг.

Группа (генотип)	Больные с клиническим диагнозом												Контактные
	Менингит	Герпангина	Экзантема	Стоматит	Гастроэнтерит	Фарингит	ОРВИ	Герпангина + экзантема	Стоматит + экзантема	Фарингит + экзантема	ЭВИ	Всего	
Enterovirus A	9	129	122	37	6	20	19	17	55	2	67	483	18
Coxsackievirus A2	2	14	1		2	1					3	23	1
Coxsackievirus A4		2	3		1						2	8	
Coxsackievirus A5		3										3	
Coxsackievirus A6	3	64	95	33		13	13	10	44	2	40	317	7
Coxsackievirus A8	1	1					1				2	5	
Coxsackievirus A10	1		1		2	1	2	1	1		5	14	
Coxsackievirus A16	1	42	9	2		2	3	6	1		11	77	
Coxsackievirus A19													1
Coxsackievirus A21		1				9						10	
Enterovirus A71	1	3	13	2	1	3			9		4	36	10
Enterovirus B	446	34	35	0	3	6	62	1	3	0	62	652	16
Coxsackievirus A9	14	1					2		1		4	22	
Coxsackievirus B1	1	2	1				1				2	7	
Coxsackievirus B3			1				2				1	4	
Coxsackievirus B2	2		4				1				3	10	
Coxsackievirus B4	21	8	3				2				15	49	2
Coxsackievirus B5	33	11	3		1	1	13		1		9	72	2
Echovirus E2											1	1	
Echovirus E3													1
Echovirus E4	1											1	
Echovirus E5	5											5	
Echovirus E6	28	2					11				4	45	5
Echovirus E7	4	1									1	6	
Echovirus E9	28	2	2			1	4		1		5	43	
Echovirus E11	7	1					1				2	11	
Echovirus E13	21		1									22	
Echovirus E14	5											5	
Echovirus E16	2											2	
Echovirus E18	25	3	10				3				2	43	1
Echovirus E25	2										4	6	
Echovirus E30	247	3	10		2	4	21	1			9	297	5
Echovirus E33							1					1	
Enterovirus C	1	1				9	1					12	2
Coxsackievirus A22							1					1	1
Enterovirus C96	1											1	
Всего:	456	164	157	37	9	35	82	18	58	2	129	1147	36

Из 81 очагов групповых случаев ЭВНИ (3 и более) за изучаемый период удалось исследовать биологический материал и определить серотип возбудителя в 21 случае (Таблица 22).

Таблица 22

Серотипы энтеровирусов, выделенных от больных и контактных лиц в очагах групповой заболеваемости ЭВНИ (3 и более случая) в 2017-2019 гг.

Группа (генотип)	Больные с клиническим диагнозом										Контактные
	Менингит	Герпангина	Экзантема	Стоматит	Фарингит	ОРВИ	Герпангина + экзантема	Стоматит + экзантема	Фарингит + экзантема	Всего	
Enterovirus A	1	80	100	35	16	6	5	50	2	295	9
Coxsackievirus A2		7			1					8	0
Coxsackievirus A4			1							1	0
Coxsackievirus A6		50	85	33	13	6		41	2	230	5
Coxsackievirus A16	1	23	2				5			31	0
Coxsackievirus A19										0	1
Coxsackievirus A21					9					9	0
Enterovirus A71			12	2	2			9		25	4
Enterovirus B	171	2	16	0	0	28	0	2	0	219	11
Coxsackievirus A9	3					1		1		5	0
Coxsackievirus B4		1	2							3	0
Coxsackievirus B5	7		2			1				10	1
Echovirus E5	1									1	0
Echovirus E6	9					10				19	5
Echovirus E9	7					1		1		9	0
Echovirus E11	1									1	0
Echovirus E13	21									21	0
Echovirus E14	1									1	0
Echovirus E18	2	1	9			3				15	1
Echovirus E30	119		3			12				134	4
Всего:	172	82	116	35	25	34	5	52	2	523	21

Между тем, информация о возбудителях от контактных лиц очень важна, поскольку позволяет выявить новые штаммы, циркулирующие в популяции на определенной территории и изучить их биологические свойства. В связи с этим,

обратимся к нескольким примерам расшифрованных эпидемических очагов групповой заболеваемости ЭВНИ.

Пример 1. В очаге групповой заболеваемости с числом случаев 5 (энтеровирусный стоматит - 3, энтеровирусный стоматит с экзантемой - 2) и контактных вирусовыделителей (8 человек) основным представителем был серотип *Coxsackievirus A6*. Очаг возник в детском организованном коллективе, при этом из кишечника одного из контактных лиц определен *Coxsackievirus A19*. Выявленный серотип по данным литературы [196] встречается редко и вызывает манифестные формы инфекции лишь у лиц с глубокой иммуносупрессией. Циркулирует возбудитель в человеческой популяции с 60-х годов XX-го века и имеет близкородственные генетические связи с группой *Enterovirus C* (как и *Poliovirus*). Хорошо известна роль подобных близкородственных серотипов НПЭВ в возникновении вирусов вакцинного происхождения, обладающих повышенной нейровирулентностью. Важную роль при этом играет рекомбинация, когда два вируса, находясь в «одной клетке», обмениваются участками генетического материала. В результате образуются гибридные формы, совмещающие признаки обоих родительских штаммов с возможным изменением тропизма, антигенного профиля или патогенности [24, 159].

Пример 2. Очаг групповой заболеваемости зарегистрирован в 2017 году в поселке Е. в дошкольном учреждении. Заболели 5 детей из 5 групп детского сада, все были госпитализированы с 13.06.2017 по 23.06.2017 с признаками серозного менингита. Возраст заболевших составил от 3 до 5 лет. У пациентов из ликвора или назофарингеальных смывов был выявлен серотип *Echovirus E6* геновариант "С2". В ходе эпидемиологического обследования очага взяты назофарингеальные смывы и фекалии от 31 контактного лица, в том числе от 17 сотрудников пищеблока, воспитателей и помощников воспитателя. При этом 10 из 14 детей имели признаки ОРВИ. По данным ПЦР все 14 проб от детей дали положительный результат, у 4 детей (без признаков ОРВИ) энтеровирус обнаружен в фекалиях. Во всех пробах от контактных лиц выявлены штаммы серотипа *Echovirus E6* геновариант "С2", все они были сопоставимы по генетическому профилю с изолятами, выделенными от больных. Это один из немногих примеров, где обследованию контактных лиц было уделено серьезное внимание.

Пример 3. В 2018 году в посёлке И. в детском дошкольном учреждении выявлены два ребёнка в возрасте 3-х лет с признаками энтеровирусного стоматита. Заболевание вызвал серотип *Enterovirus A71*. В ходе эпидемиологического обследования очага, локализованного в одной из групп детского сада, были установлены контактные лица. В их числе 14 детей и 3 сотрудника дошкольного учреждения. У 10 детей в смывах из ротоглотки методом ПЦР была

обнаружена РНК А71. Генотипирование образцов установило идентичность выделенных изолятов.

Данные примеры подтверждают необходимость активного лабораторного обследования контактных лиц в очагах ЭВНИ, так как это позволит определить истинный уровень распространённости НПЭВ и циркуляцию актуальных вирусных штаммов. В наших примерах это Echovirus Е6, который, при определенных условиях, способен вызывать тяжёлые формы ЭВМ с поражением менингеальных оболочек и Enterovirus А71, эпидемии ящуроподобного заболевания с его участием и летальными исходами известны всему миру.

4.2.1 Тяжелые клинические формы энтеровирусной (неполио) инфекции и формы энтеровирусной (неполио) инфекции по типу острого респираторного заболевания

К тяжелым клиническим формам ЭВНИ были отнесены энтеровирусные серозные менингиты.

Изучено 456 штаммов (Таблица 21), в структуре преобладали серотипы Enterovirus В – 446 штаммов (97,8 %), в их числе Echovirus – 375 (82,2 %) с доминирующим серотипом Echovirus Е30 – 247 (54,2 %). Доля остальных представителей находилась в интервале от 0,2 % до 7,2 % (Рисунок 42).

В очагах групповой заболеваемости также лидировал серотип Echovirus Е30 (69,2 %). Второе место с существенным отставанием занимал Echovirus Е13 (12,2 %).

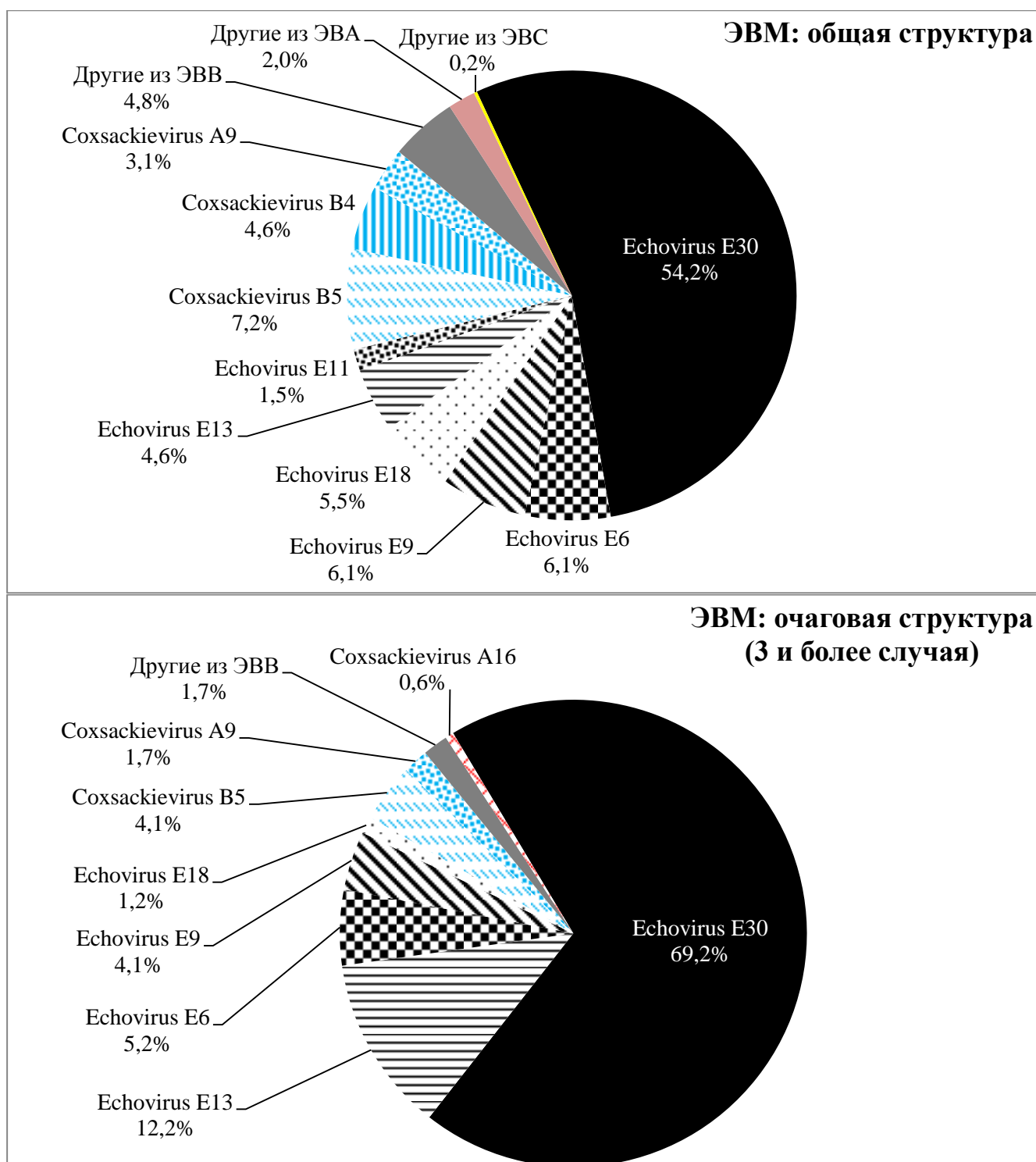


Рисунок 42. Этиологическая структура энтеровирусных менингитов (2017-2019 гг.)

Не смотря на то, что этиологическая структура энтеровирусных ОРВИ была более разнообразной, доминирующим, как и в случаях с ЭВМ, был Enterovirus B (75,6 %) с преобладанием Echovirus (50,0 %), Coxsackievirus B в сумме составили 20,7 % (Рисунок 43).

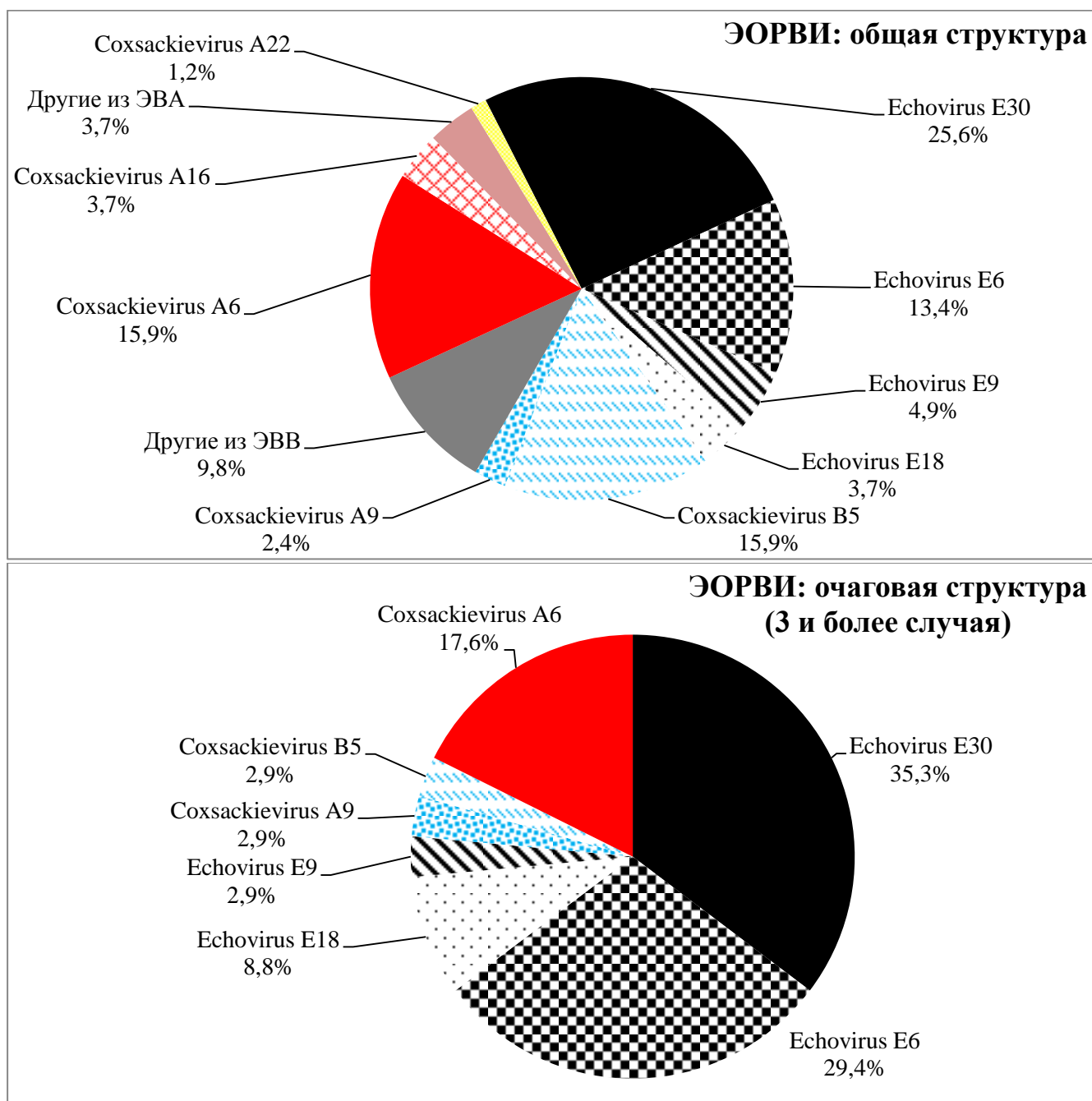


Рисунок 43. Этиологическая структура энтеровирусных ОРВИ (2017-2019 гг.)

Очаги групповой заболеваемости преимущественно формировали три серотипа: Echovirus E30 (35,3 %), Echovirus E6 (29,4 %) и Coxsackievirus A6 (17,6 %).

Таким образом, установлено, что тяжелые клинические формы ЭВНИ на территориях УФО и Западной Сибири в период 2017-2019 гг. вызывали преимущественно НПЭВ Enterovirus B (ЭВМ - 97,8 % и ОРВИ - 75,6 %).

Ведущим патогеном при ЭВМ был серотип Echovirus E30 (54,2 %), в очагах групповой заболеваемости его доля составила 69,2 %. При энтеровирусных ОРВИ этиологическая структура была более разнообразной с преобладанием как в очагах групповой заболеваемости (3 и более случаев) так и при спорадической заболеваемости Echovirus E30 (35,3 % и 25,6 % соответственно).

4.2.2 Локализованные клинические формы энтеровирусной (неполио) инфекции.

К локализованным клиническим формам ЭВНИ отнесены герпангина (164), экзантема (157), стоматит (37), фарингит (35), гастроэнтерит (9), а также их сочетания: герпангина-экзантема (18), стоматит-экзантема (58), фарингит-экзантема (2). Всего 480 случаев. Именно эти «малые» формы ЭВНИ определяли заболеваемость на территориях с высоким уровнем заболеваемости. В отличие от ЭВМ и энтеровирусных ОРВИ, где преобладающими серотипами были представители Enterovirus B (ЭВМ - 97,8 % и ОРВИ - 75,6 %), в этиологической структуре «малых» форм преобладали Enterovirus A – 388 случаев (80,8 %). Они были зарегистрированы в 64 (79,0 %) из 81 эпидемических очагов с числом случаев 3 и более.

Энтеровирусную герпангину (Рисунок 44) чаще других вызывали представители Coxsackievirus A6 (39,0 % в общей структуре и 61,0 % в очагах с групповыми случаями), Coxsackievirus A16 составил 25,6 % и 28,0 % соответственно.

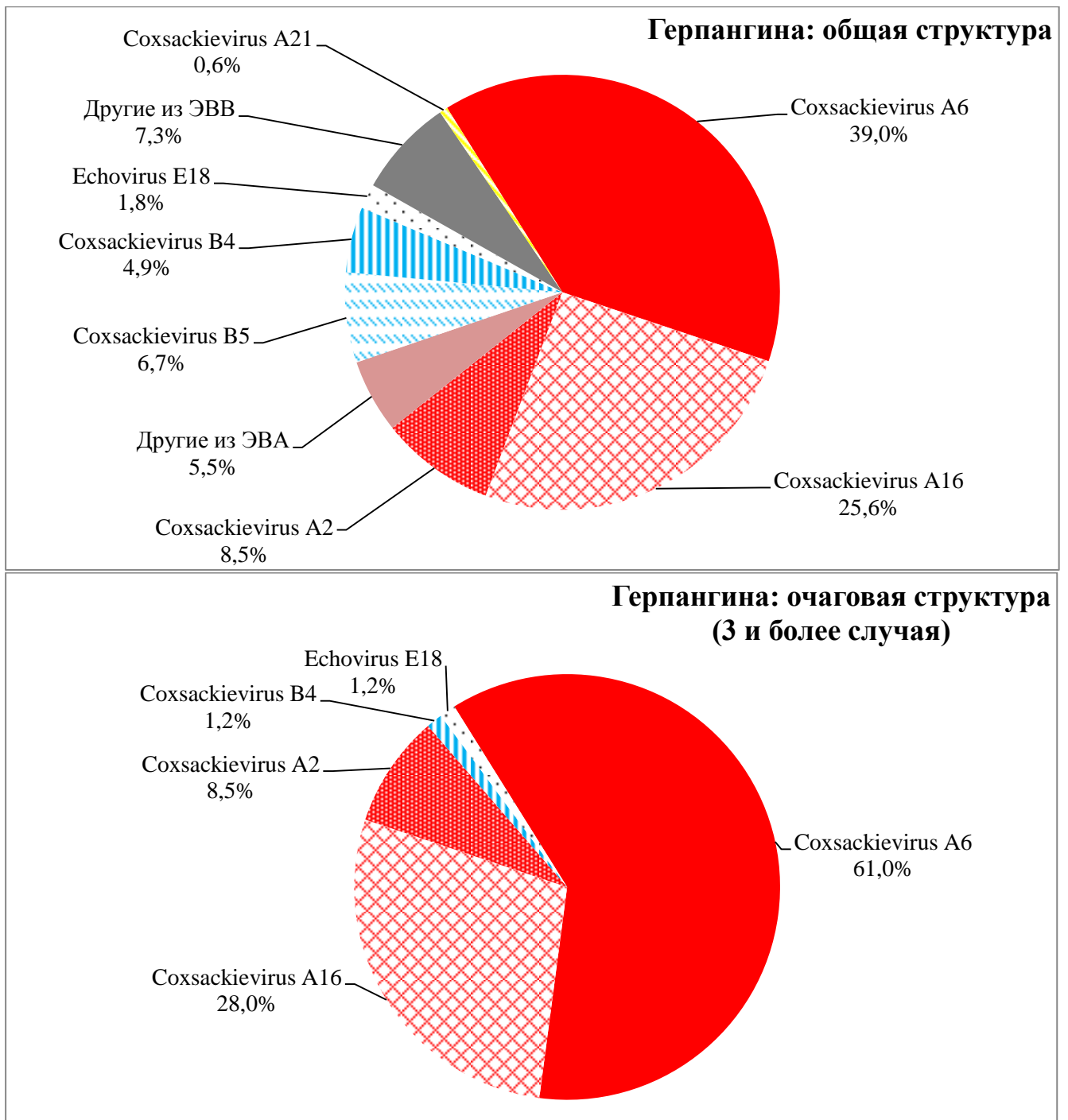


Рисунок 44. Этиологическая структура энтеровирусных герпангин (2017-2019 гг.)

Энтеровирусные фарингиты (Рисунок 45) - Coxsackievirus A6 (37,1 % и 52,0 %) и Coxsackievirus A21 (25,7 % и 36,0 %).

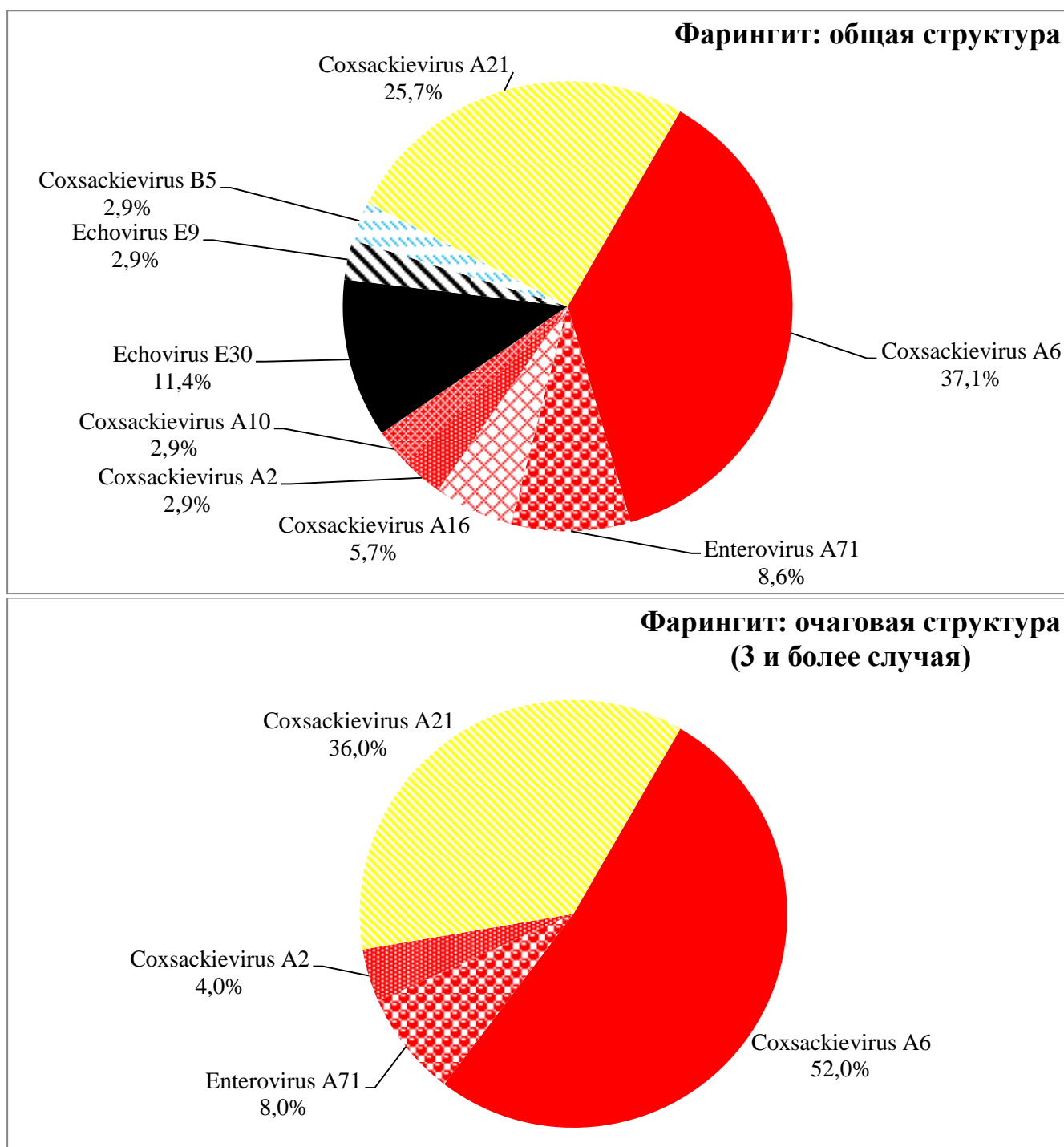


Рисунок 45. Этиологическая структура энтеровирусных фарингитов (2017-2019 гг.)

Энтеровирусные стоматиты (Рисунок 46) были обусловлены тремя серотипами: Coxsackievirus A6 (89,2 %), Enterovirus A71 (5,4 %) и Coxsackievirus A16 (5,4 %), при этом в очагах групповой заболеваемости встречались лишь два из них - Coxsackievirus A6 (94,3 %) и Enterovirus A71 (5,7 %).

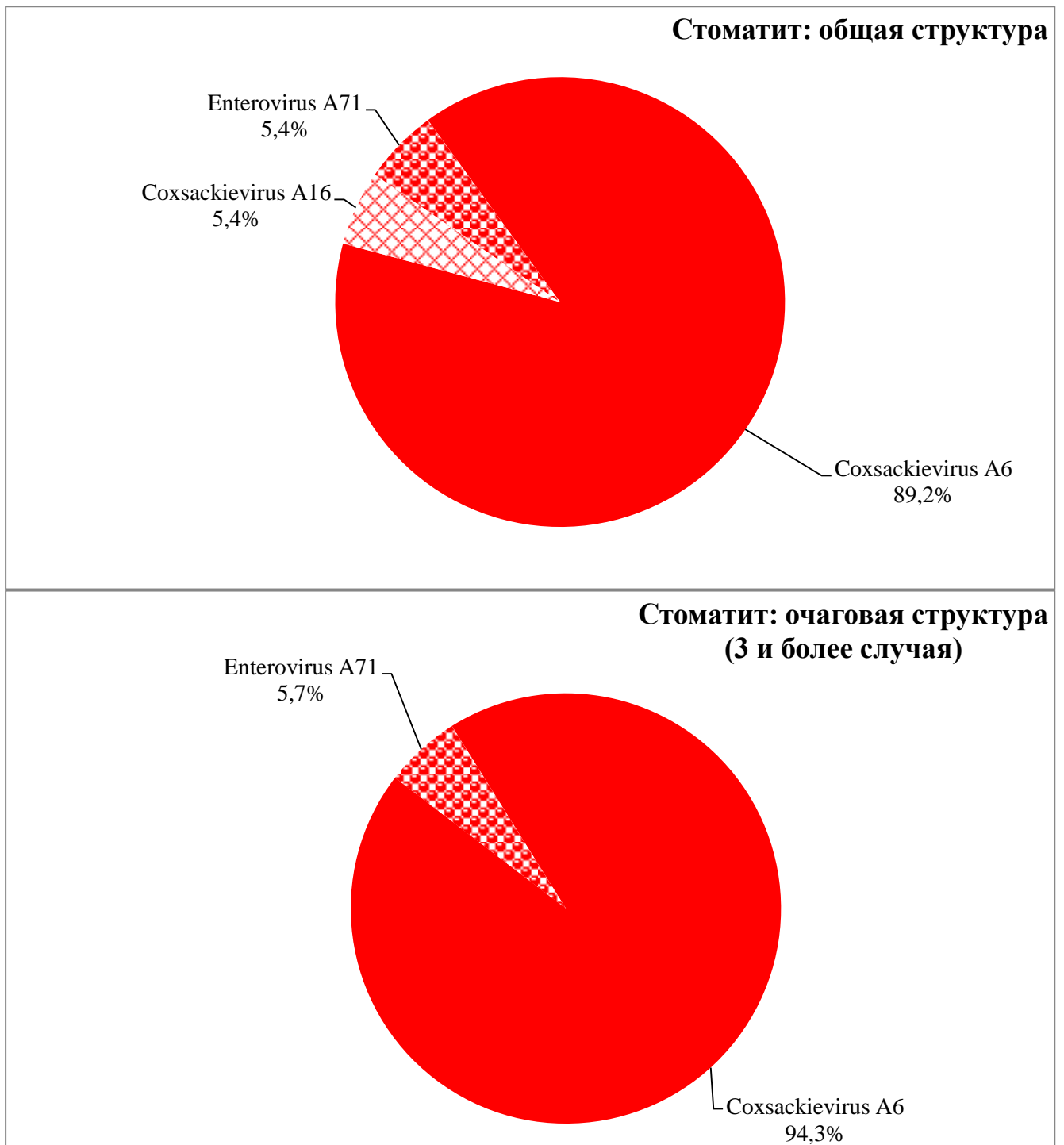


Рисунок 46. Этиологическая структура энтеровирусных стоматитов (2017-2019 гг.)

Этиологическая структура энтеровирусных экзантем была более разнообразной (Рисунок 47).

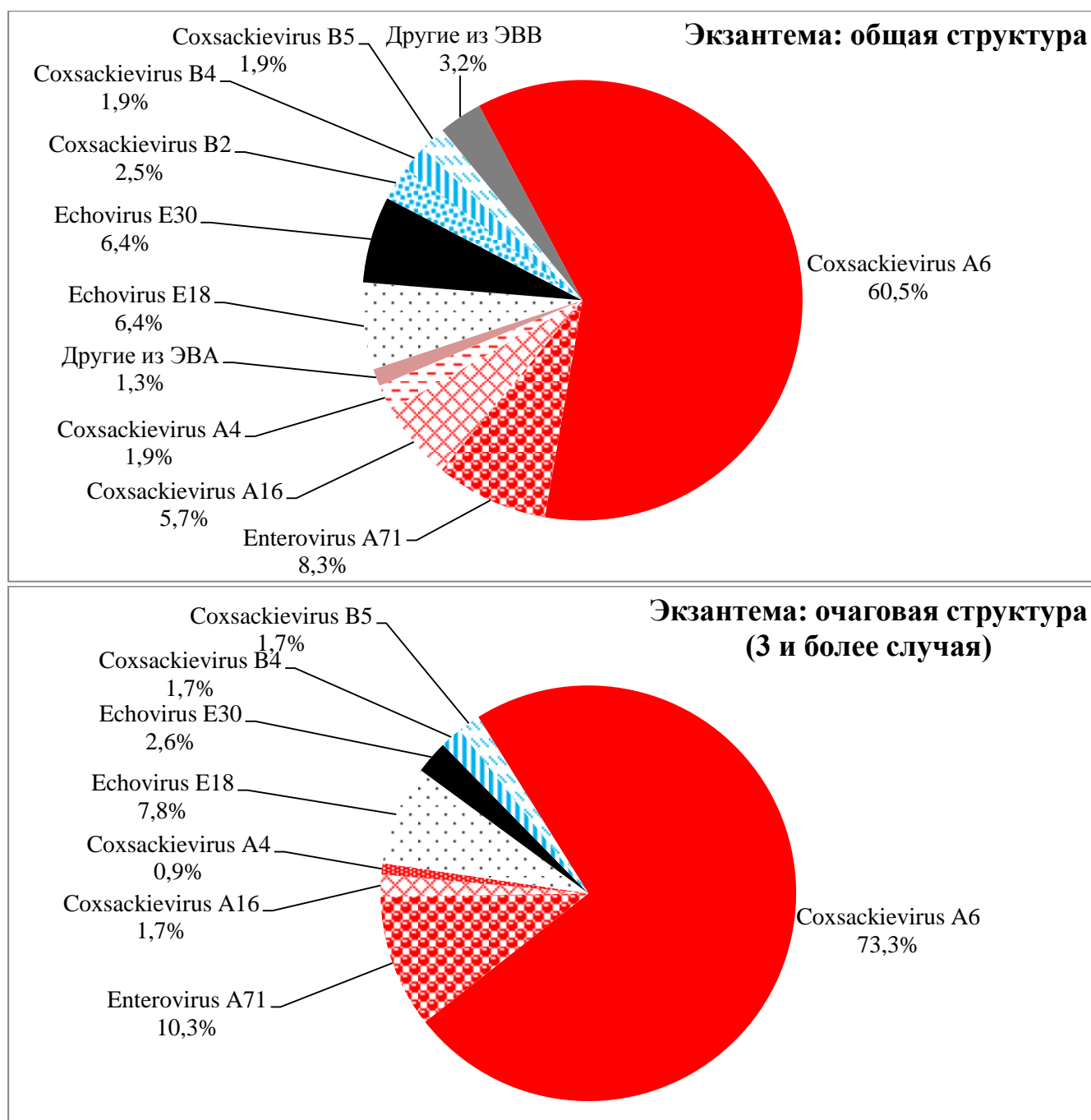


Рисунок 47. Этиологическая структура энтеровирусных экзантем (2017-2019 гг.)

Несмотря на общее доминирование Coxsackievirus A6 (60,5 %), в развитии эпидемического процесса также участвовали еще 15 серотипов, в их числе: Enterovirus A71, Coxsackievirus A16, Coxsackievirus A4, Coxsackievirus A2, Coxsackievirus A10, Echovirus E18, Echovirus E30, Echovirus E9, Echovirus E13, Coxsackievirus B1, Coxsackievirus B2, Coxsackievirus B3, Coxsackievirus B4,

Coxsackievirus B5. Очаги групповой заболеваемости формировали восемь из них, с преобладанием Coxsackievirus A6 (73,2 %).

Наиболее разнообразной оказалась этиологическая структура энтеровирусных гастроэнтеритов, 9 изученных штаммов относились к 6 серотипам - Coxsackievirus A2, Coxsackievirus A4, Coxsackievirus A10, Enterovirus A71, Coxsackievirus B5, Echovirus E30 (Рисунок 48), что ставит под сомнение их этиологическую значимость в развитии заболевания. В пользу этого свидетельствует и тот факт, что групповых случаев энтеровирусных гастроэнтеритов на территории Урала и Западной Сибири за изучаемый период (2017-2019 гг.) зарегистрировано не было.

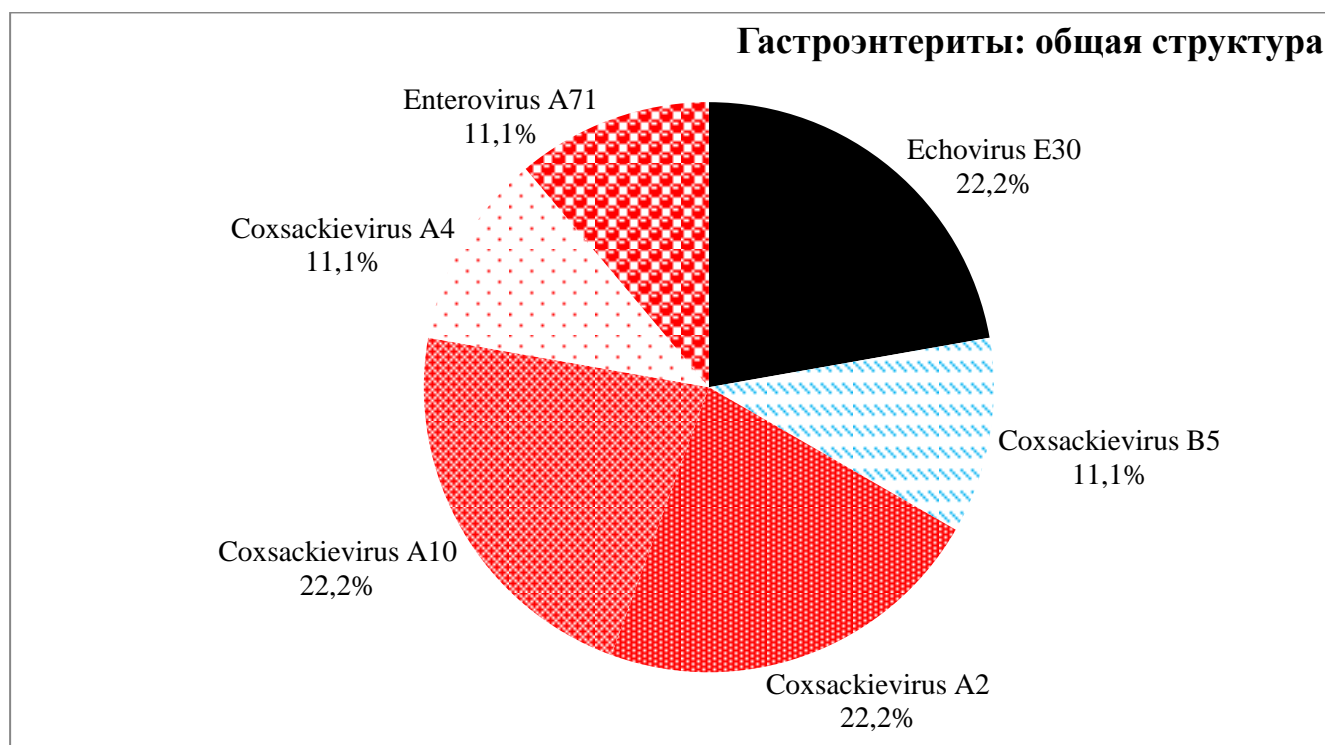


Рисунок 48. Этиологическая структура энтеровирусных гастроэнтеритов (2017-2019 гг.)

При сочетанных формах ЭВНИ основным клиническим симптомом была экзантема. В числе выявленных случаев герпангина-экзантема (18), стоматит-экзантема (58), фарингит-экзантема (2), всего 78 случаев. В их развитии, как и при моноинфекциях, активное участие принимал серотип Coxsackievirus A6 (71,8 %), второе ранговое место с существенно меньшей долей занял Enterovirus A71

(11,5 %), третье - Coxsackievirus A16 (9,0 %). В единичных случаях встречались Coxsackievirus A10, Coxsackievirus A9, Coxsackievirus B5, Echovirus E9 и Echovirus E30 (Рисунок 49).

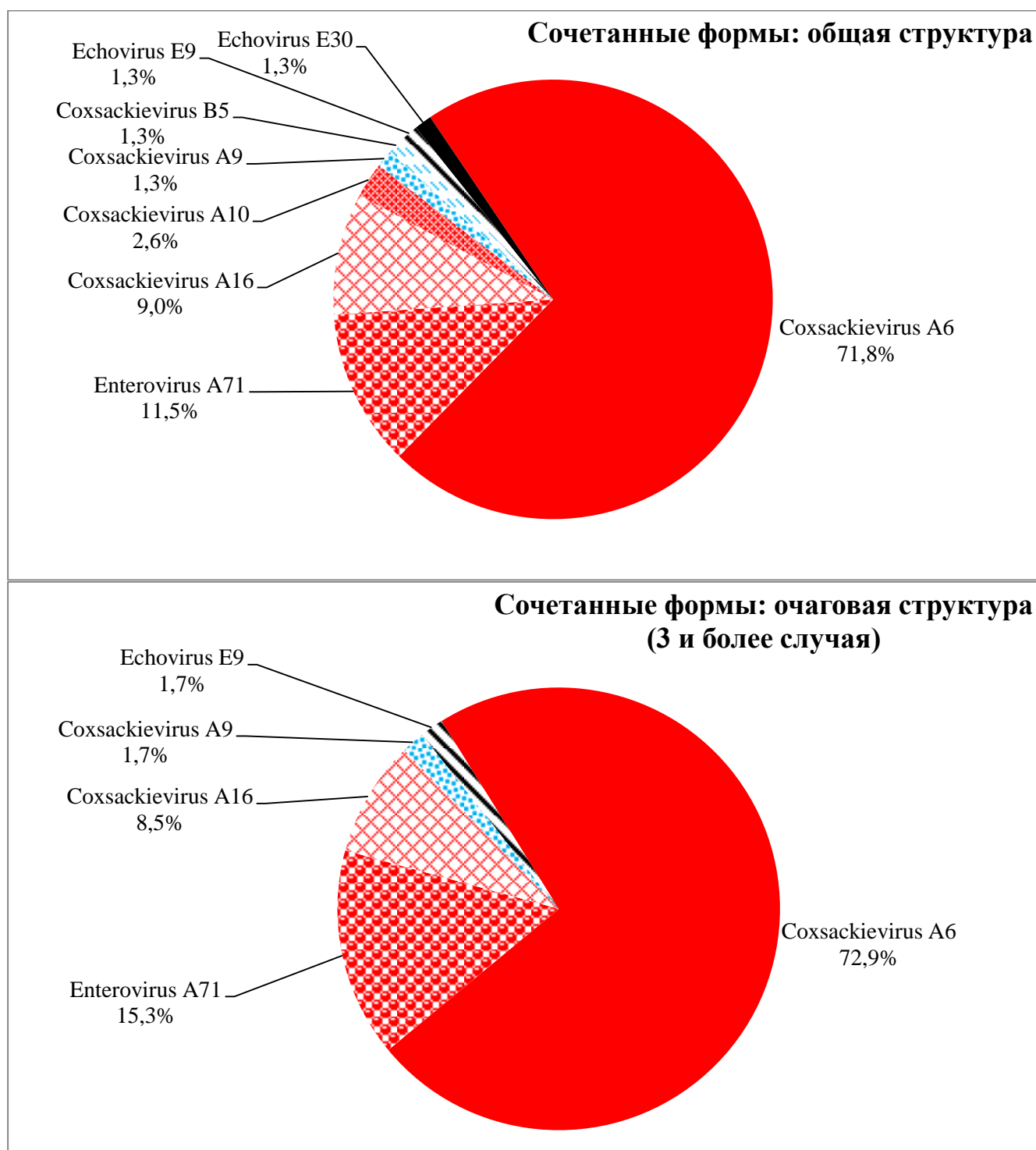


Рисунок 49. Этиологическая структура сочетанных форм энтеровирусной (неполио) инфекции (2017-2019 гг.)

В очагах групповой заболеваемости преобладал Coxsackievirus A6 (72,9 %).

Структура клинических форм, зарегистрированных под диагнозом ЭВИ (129) в основном была представлена «малыми» формами с ведущим серотипом *Coxsackievirus A6* – 31,0 % (40) (Рисунок 50).

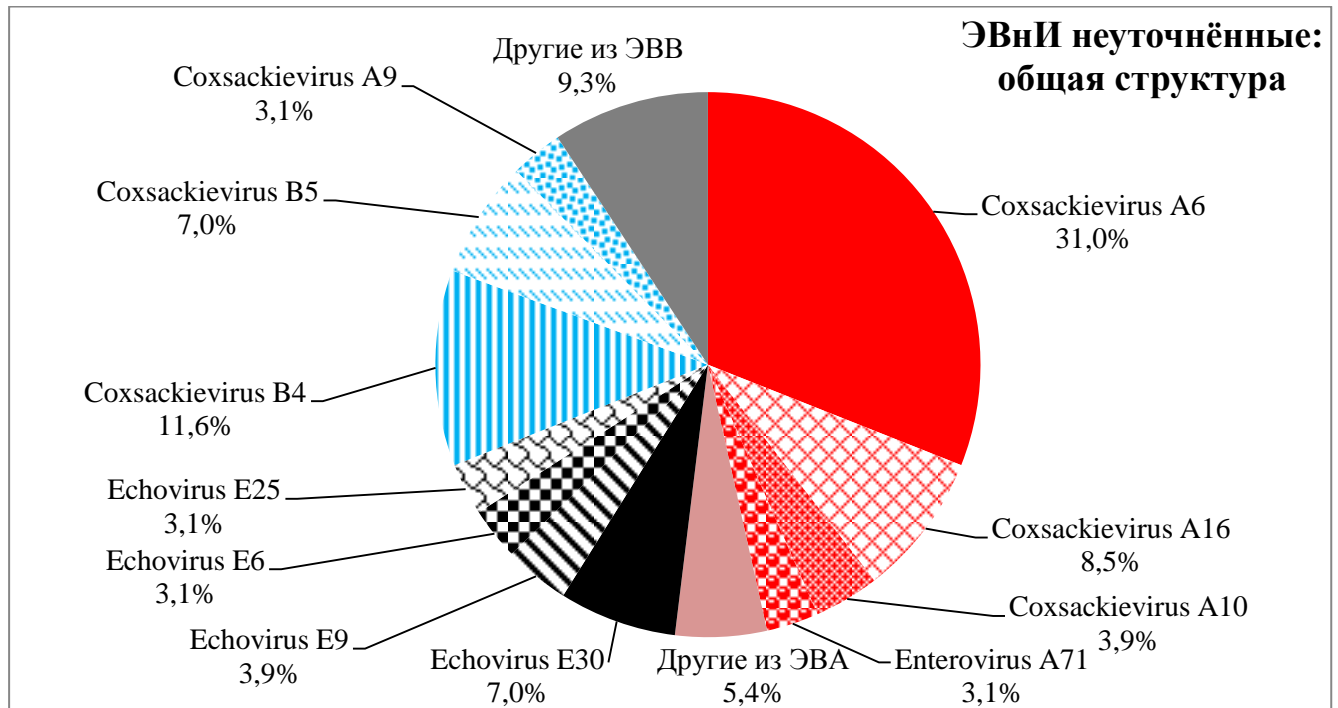


Рисунок 50. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции среди лиц с диагнозом ЭВИ (2017-2019 гг.)

Таким образом, анализ этиологической структуры ЭВИ на территориях Уральского федерального округа и Западной Сибири, проведенный за период 2017-2019 гг., позволил сделать вывод о том, что в развитии наиболее тяжелых клинических форм определяющую роль играли *Enterovirus B* (*Echovirus E30*). Локализованные или «малые» формы ЭВИ были обусловлены *Enterovirus A* (*Coxsackievirus A6*). Тяжелые формы преобладали на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса. Так, в общей структуре ЭВИ в этой группе территорий ЭВМ составил 59,5 %. На территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса доля лиц с ЭВМ в общей структуре ЭВИ по данным официальной статистики не превысила 34,9 % (см. главу 3).

При явном доминировании двух серотипов *Coxsackievirus A6* и *Echovirus E30* и определяющей роли *Echovirus E30* в развитии ЭВМ, наблюдались отличия в разрезе «малых» клинических форм. При герпангинах чаще

обнаруживался Coxsackievirus A6 (39,0 %) и Coxsackievirus A16 (25,6 %), при фарингитах Coxsackievirus A6 (37,1 %) и Coxsackievirus A21 (25,7 %). При стоматитах, экзантемах и сочетанных формах в этиологической структуре лидировал Coxsackievirus A6 (89,2 %, 60,5 % и 71,8 % соответственно).

Ведущие возбудители ЭВНИ из крупных эпидемических очагов с числом случаев 3 и более лидировали в общей этиологической структуре и составили 87,4 % от всех обнаруженных изолятов, несмотря на то, что доля случаев ЭВНИ в очагах групповой заболеваемости на территориях за изучаемый период (2017-2019 гг.) не превысила 45,6 % (523 из 1147). На территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса эти показатели соответствовали 86,3 % и 56,7 % (415 из 715), с низкой интенсивностью - 89,2 % и 26,0 % (108 из 415), что свидетельствует о скрытом эпидемическом процессе и возможном недоучете случаев групповой заболеваемости, прежде всего, на территориях с низкой регистрацией случаев. Именно на этих территориях преобладали тяжелые клинические формы ЭВМ в виде спорадических случаев (см. главу 3). Спектр циркулирующих энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости имел меньшее разнообразие чем при спорадической заболеваемости.

4.3 Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции в разных возрастных группах населения

В соответствии с анатомо-физиологическими особенностями человеческого организма (критерии утв. на Международном симпозиуме по возрастной периодизации, 1965 г.) и с особенностями клинического течения ЭВНИ была построена возрастная градация обследуемых лиц для оценки этиологической структуры и определения групп, наиболее подверженных риску заболеть [6, 30]. Первая возрастная группа – от 0 до 23 мес.; вторая – 2-3 года; третья – 4-6 лет; четвертая – 7-14 лет; пятая – 15-17 лет; шестая – 18 лет и старше.

Первая возрастная группа (от 0 до 23 мес.) сформирована исходя из кросс-секционных исследований популяционного иммунитета к ЭВНИ на примере серотипа Enterovirus A71, где было установлено, что материнские антитела к вирусу исчезают из крови новорожденного уже к концу первого месяца жизни и отсутствуют у здоровых детей до 23 месяца жизни. Среди детей от 2 до 5 лет ежегодно происходит рост иммунной прослойки (на 12 % ежегодно) в популяции, имеющей антитела к EV-A71. К 5-летнему возрасту показатель достигает 50 %, что свидетельствует об активной циркуляции вируса даже в отсутствие регистрации вспышечной заболеваемости [225]. Таким образом, период от 0 до 23 месяцев очень важен для эпидемиологических исследований в отношении ЭВНИ.

Второй возрастной группой является возраст от 24 до 47 месяцев (2 – 3 года) – завершающей период раннего детства. Дети из данной возрастной группы уже довольно часто бывают вовлечены в эпидемический процесс в организованных коллективах.

Третья возрастная группа с 4-х до 6 лет 11 месяцев соответствует периоду первого детства, а также периоду, когда большинство детей становятся частью организованных детских коллективов.

Четвёртая (от 7 лет до 14 лет 11 месяцев), пятая (от 15 лет до 17 лет 11 месяцев) и шестая (от 18 лет и старше) группы обусловлены, в основном, социальными факторами, а также сложившимися системами статистической отчетности, в том числе статистического учёта заболеваемости.

Этиологическая структура заболевших лиц ЭВНИ с учетом ранжированных нами возрастных периодов представлена в Таблице 23 и Таблице Таблица 24.

В целом представленная этиологическая структура ЭВНИ имела связь с клиническими формами. Так, среди детей до 2 лет, которые, как известно, переносят ЭВНИ преимущественно в форме энтеровирусных экзантем, преобладали Enterovirus A - Coxsackievirus A6 (54,5 %), Coxsackievirus A16 (11,3 %) и Enterovirus A71 (4,9 %). У детей от 2-х до 3-х лет наблюдается схожая тенденция – Coxsackievirus A6 (48,3 %), Coxsackievirus A16 (8,7 %) и Enterovirus A71 (9,3 %).

Серотипы энтеровирусов от больных и контактных лиц
разных возрастных групп (2017-2019 гг.)

Группа (генотип)	Возраст (лет)						Всего
	0-1 год	2-3 года	4-6 лет	7-14 лет	15-17 лет	18 и старше	
Enterovirus A	98	233	106	44	3	17	501
Coxsackievirus A2	2	12	7	3			24
Coxsackievirus A4	4	1	2	1			8
Coxsackievirus A5	1		2				3
Coxsackievirus A6	67	156	61	20	3	17	324
Coxsackievirus A8	1	1	1	2			5
Coxsackievirus A10	3	5	3	3			14
Coxsackievirus A16	14	28	25	10			77
Enterovirus A71	6	30	5	5			46
Enterovirus B	25	88	218	251	38	48	668
Coxsackievirus A9		2	7	10		3	22
Coxsackievirus B1	2		3	1	1		7
Coxsackievirus B3	2	2					4
Coxsackievirus B2	2	4	2	2			10
Coxsackievirus B4	4	8	23	9	6	1	51
Coxsackievirus B5	3	23	18	18	3	9	74
Echovirus E2				1			1
Echovirus E3	1						1
Echovirus E4			1				1
Echovirus E5		1	2	1		1	5
Echovirus E6	1	11	19	10	3	6	50
Echovirus E7	1	1		3	1		6
Echovirus E9	2	4	10	21	1	5	43
Echovirus E11	1	1	3	5		1	11
Echovirus E13		3	7	11		1	22
Echovirus E14			2	2		1	5
Echovirus E16			1	1			2
Echovirus E18	2	3	21	15	1	2	44
Echovirus E25	1	1	3	1			6
Echovirus E30	3	24	96	139	22	18	302
Echovirus E33				1			1
Enterovirus C	0	1	1	1	0	11	14
Coxsackievirus A19			1				1
Coxsackievirus A21						10	10
Coxsackievirus A22		1				1	2
Enterovirus C96				1			1
Итого	123	322	325	296	41	76	1183

Серотипы энтеровирусов от больных и контактных лиц разных возрастных групп
в очагах 3 и более случая (2017-2019 гг.)

Группа (генотип)	Возраст (лет)						Всего
	0-1 год	2-3 года	4-6 лет	7-14 лет	15-17 лет	18 и старше	
Enterovirus A	47	174	66	13	1	3	304
Coxsackievirus A2		8					8
Coxsackievirus A4			1				1
Coxsackievirus A6	42	134	45	10	1	3	235
Coxsackievirus A16	3	10	17	1			31
Enterovirus A71	2	22	3	2			29
Enterovirus B	0	29	89	87	16	9	230
Coxsackievirus A9			1	3		1	5
Coxsackievirus B4			3				3
Coxsackievirus B5		2	1	4		4	11
Echovirus E5			1				1
Echovirus E6		7	12	3	1	1	24
Echovirus E9		1	1	7			9
Echovirus E11				1			1
Echovirus E13		3	6	11		1	21
Echovirus E14				1			1
Echovirus E18		3	11	1	1		16
Echovirus E30		13	53	56	14	2	138
Enterovirus C	0	0	1	0	0	9	10
Coxsackievirus A19			1				1
Coxsackievirus A21						9	9
Итого	47	203	156	100	17	21	544

Существенные отличия в группе детей от 4-х до 6-ти лет обусловлены наряду с локализованными формами (герпангины и экзантемы) значительным распространением генерализованных форм ЭВНИ (ЭВМ). В этой группе преобладающими серотипами закономерно являлись Echovirus E30 (29,5 %) и Coxsackievirus A6 (18,8 %). В последующем, Echovirus E30 вытесняет Coxsackievirus A6 и в возрастной период от 7 до 14 лет и с 15 до 17 лет доминирует над всеми остальными серотипами (47,0 % и 53,7 % соответственно). Именно в этом возрасте наблюдается самый высокий уровень заболеваемости ЭВМ. В дальнейшем (от 18 лет и старше) инфекционный процесс переходит на уровень локализованных клинических форм, где Echovirus E30 делит

лидирующие позиции с Coxsackievirus A6 (23,7 % и 22,4 % соответственно)
(Рисунок 51).

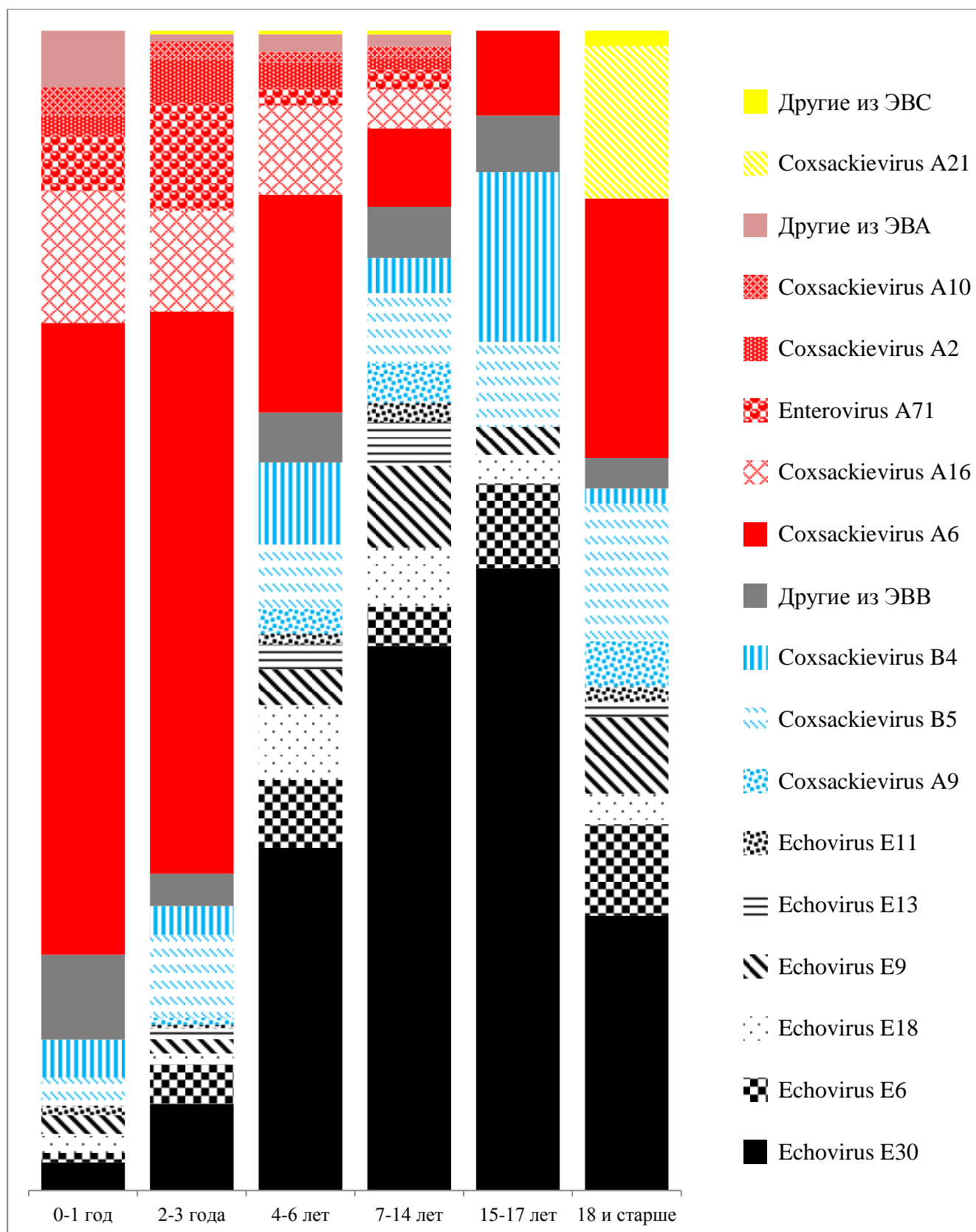


Рисунок 51. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции в различных возрастных группах (2017-2019 гг.)

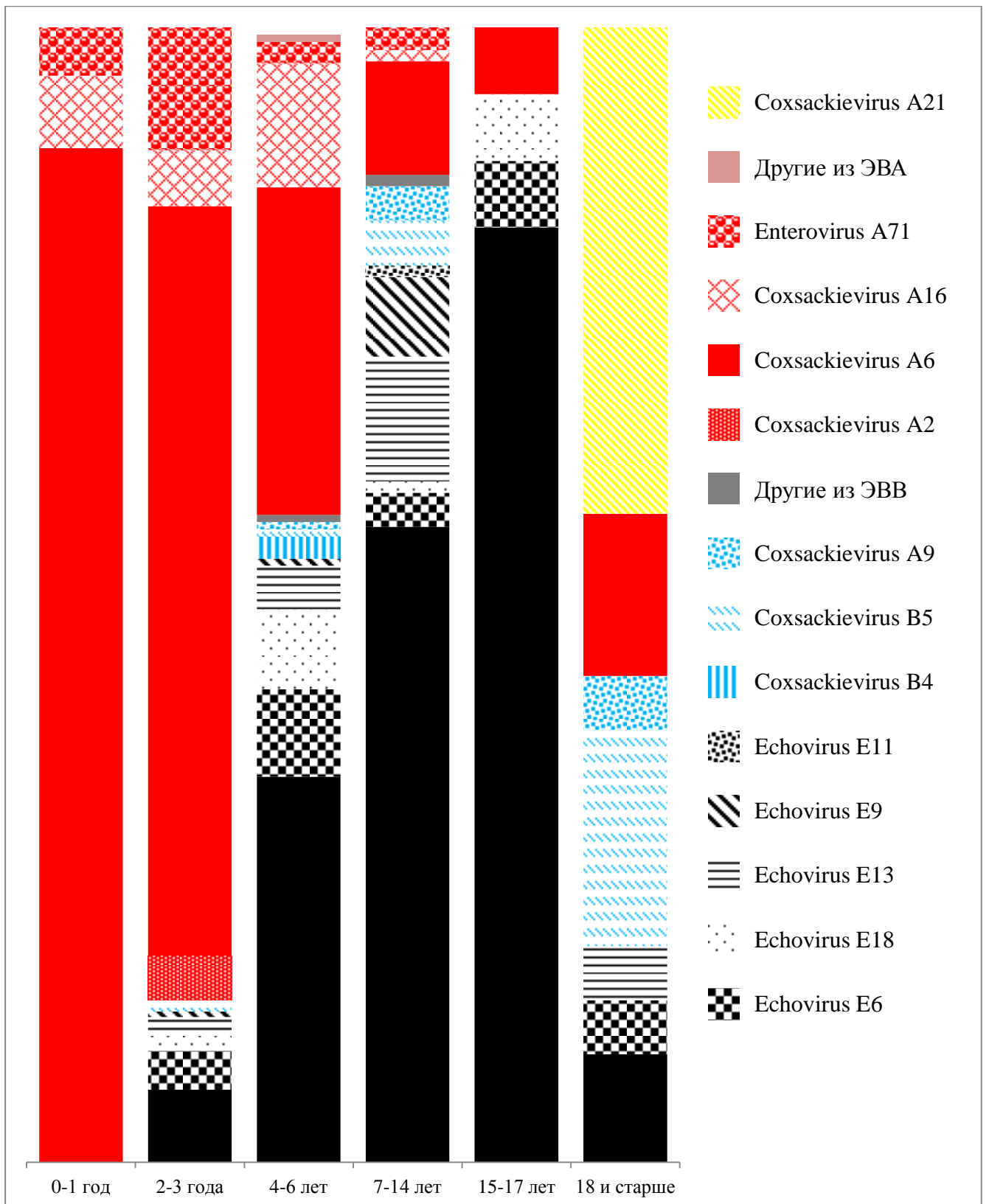


Рисунок 52. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции в различных возрастных группах в очагах групповой заболеваемости (2017-2019 гг.)

По мнению ряда авторов [11] данная тенденция связана с иммунизацией детей вакциной против полиомиелита.

Таким образом, преобладающими серотипами НПЭВ у детей до 3-х лет являются Coxsackievirus A6, Coxsackievirus A16 и Enterovirus A71. В группе детей от 4 до 6 лет - Echovirus E30 и Coxsackievirus A6. От 7 до 15 лет - Echovirus E30. С 18 лет и старше - Echovirus E30 и Coxsackievirus A6. Такое распределение серотипов, прежде всего, связано со спецификой клинических форм в каждой возрастной когорте.

4.4. Филогенетический анализ актуальных геновариантов неполиомиелитных энтеровирусов

С целью проведения филогенетического анализа методом случайной выборки от больных ЭВМ с изучаемых территорий Уральского Федерального округа и Западной Сибири за период 2017-2019 гг. были собраны положительные образцы и получены 81 штамм Echovirus30 и 52 штамма Coxsackievirus B5. Филограмма построена по последовательности, кодирующей участок структурной части генома энтеровирусов (1А-1В).

Филогенетический анализ геновариантов Echovirus E30 (81 изолят) показал, что большинство обнаруженных энтеровирусов принадлежали субтипу «h» (E30h) – 81,5 % и циркулировали на изучаемых территориях уже несколько лет. Однако особого внимания заслуживает факт включения в активную циркуляцию нового геноварианта "e" (E30e) – 18,5 %. Он циркулировал на территории УФО около 10 лет назад и вызывал значительные эпидемические подъемы заболеваемости ЭВМ среди населения этих территорий. В 2018 году циркуляция данного геноварианта была зафиксирована сразу в 5-ти субъектах УФО и Западной Сибири: Свердловская, Тюменская, Курганская, Новосибирская области и ХМАО-Югра. Данные филограммы (Рисунок 53) показывают, что штаммы Echovirus 30 делятся

на два кластера: первый кластер, геновариант "h", представлен 66 изолятами, геновариант "e" – 15.

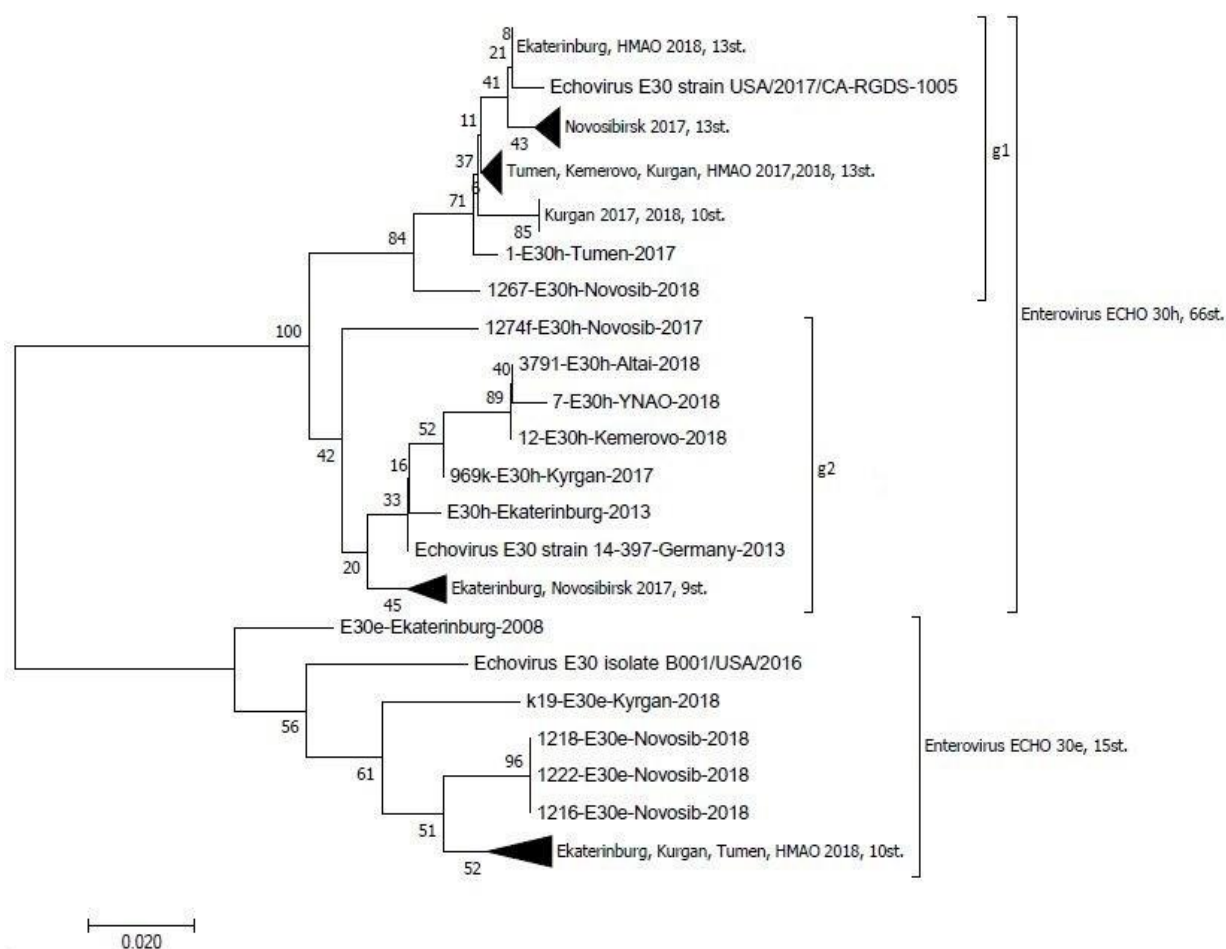


Рисунок 53. Филограмма штаммов энтеровируса E30, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017 и 2018 гг.

Геновариант E30h (1 кластер) циркулировал на территории РФ с 2013 года, в виде двух субгеновариантов (RU1 и RU4). Субгеновариант RU1 генетически был близок к изоляту, выделенному в Германии в 2013 году. В 2017 году в УФО и Западной Сибири он встречался на территории Новосибирской области, в 2018 году практически не выделялся. Субгеновариант RU4 имел генетическое родство к штамму, выделенному в США в 2017 году, и встречался на 5 изучаемых территориях в 2017 и в 2018 году.

Филогенетический анализ установил, что штаммы E30e, обнаруженные в 2018 году, образуют монофилетический кластер, наиболее генетически близкий

к штаммам, выделенным в США в 2016 году. Этот кластер в генетическом древе стоит обособленно от штаммов, вызвавших подъем заболеваемости ЭВМ в ряде субъектов РФ в 2007 - 2009 гг. (штамм E30e-Ekb-2008) и продолжавших циркулировать там до 2011 г. Возобновление циркуляции варианта вируса E30e в РФ является следствием его нового заноса на территорию страны.

Именно этим фактом, вероятнее всего, и был обусловлен самый большой за весь период наблюдения (2006-2019 гг.) всплеск заболеваемости ЭВНИ в 2017 году не только на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири, но и в целом по РФ.

Штаммы Coxsackievirus B5 (52 изолята) делились на два кластера: первый кластер представлен 46 штаммами, – 88,5 %, а второй – кластер 5 – 9,6 % (Рисунок 54).

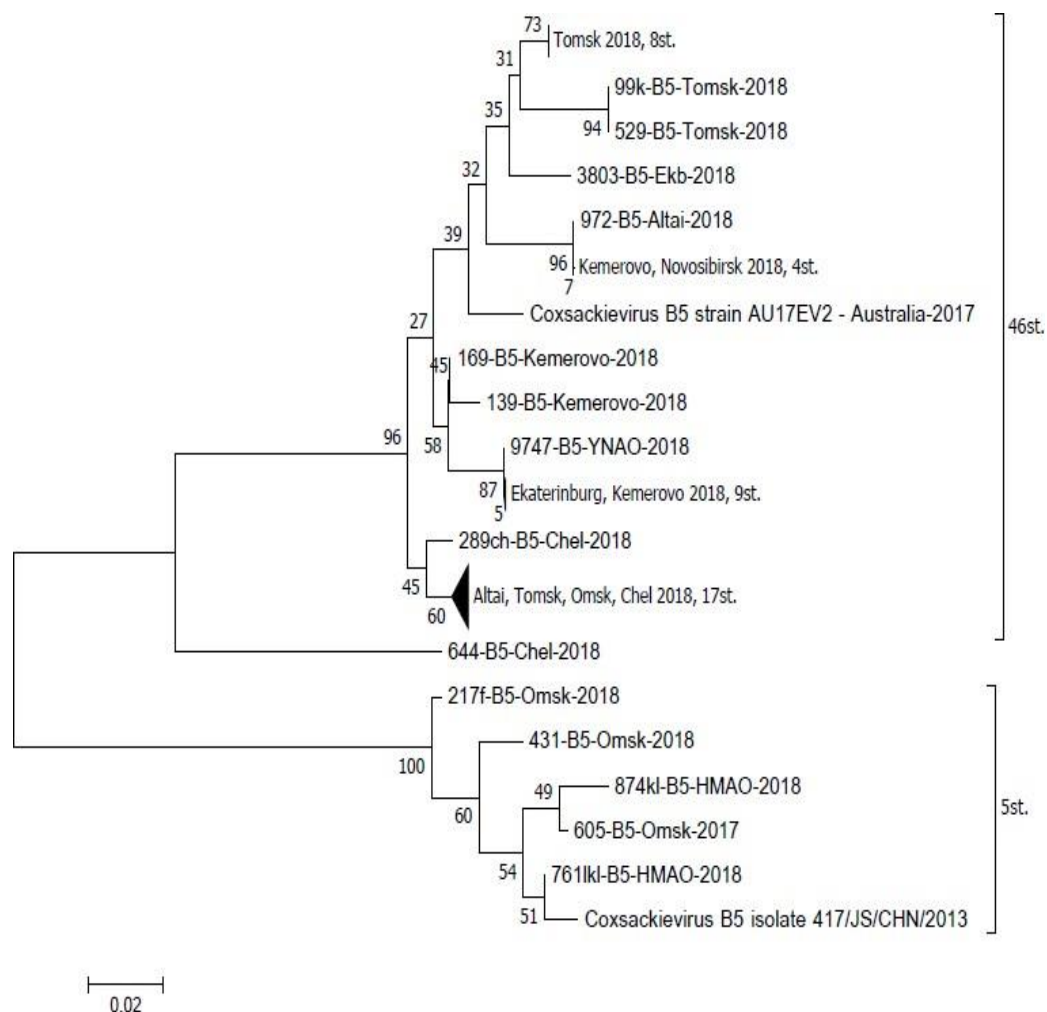


Рисунок 54. Филограмма штаммов энтеровируса СВ5, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017 и 2018 гг.

Генотип 644-B5-Chel-2018 встретился только один раз – 1,9 %, и не вошел ни в один из этих кластеров. Согласно проведенному анализу, большой кластер, представленный 46 штаммами, имел генетическое родство к генотипу, выделенному в Австралии в 2017 году. Он циркулировал на 8-ми курируемых территориях, и встречался только в 2018 году, что говорит о возможной импортации нового штамма. Малый кластер представлен 5 штаммами, которые были наиболее генетически родственны штамму, выделенному в Китае в 2013 году, и обнаружены преимущественно в Омской, Томской областях и ХМАО как в 2017, так и в 2018 году. Отметим, что за изучаемый период (2017-2019 гг.) в Томской области *Coxsackievirus B5* вышел на первое место в структуре циркулирующих штаммов (31,0 %), а в Омской – на второе (13,2 %), опередив ведущих представителей для изучаемых территорий - *Echovirus E30* и *Coxsackievirus A6*.

Таким образом, проведенные исследования позволили прийти к выводу, что различные серотипы НПЭВ имеют неодинаковую эпидемическую значимость и вызывают различные клинические формы заболевания в отдельных возрастных группах. В течение небольшого промежутка времени (одного сезона) может произойти существенная смена доминирующих геновариантов.

ГЛАВА 5 СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ЭТИОЛОГИИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ, СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Для своевременной оценки эпидемиологической ситуации, прогнозирования ее развития важное место отводится вирусологическому и молекулярно-генетическому мониторингу, как одной из составляющих информационной подсистемы эпидемиологического надзора. Мониторинг представляет собой комплексное и динамическое наблюдение за актуальными микроорганизмами, циркулирующими среди населения и во внешней среде с изучением их свойств и особенностей циркуляции. Основными задачами мониторинга на организменном уровне являются: этиологическая расшифровка заболевания, оценка резистентности возбудителя к антимикробным препаратам с целью принятия решений по эффективному лечению. На популяционном уровне – оценка биологических свойств актуальных возбудителей, определяющих высокий эпидемический потенциал (уровень групповой заболеваемости, тяжесть клинических форм), частоту встречаемости этих штаммов на территории, проведение внутривидового типирования и филогенетический анализ. Цель мониторинга на популяционном уровне состоит в своевременном реагировании на сложившуюся эпидемическую обстановку и прогнозирование риска ее развития на ближайшую, среднесрочную и долгосрочную перспективу.

Проблемы раннего выявления эпидемического неблагополучия по заболеваемости ЭВНИ являются основной задачей предэпидемической диагностики. В этой связи, для прогнозирования эпидемиологической ситуации по ЭВНИ используют различные подходы к оценке интенсивности циркуляции НПЭВ среди населения с использованием вирусологического исследования сточных вод и изучением частоты «здорового» вирусоносительства в отдельных группах населения.

Целью нашего исследования явилась оценка эффективности исследования сточных вод и фекалий «здоровых» детей для прогноза этиологии ЭВМ, как наиболее тяжелой клинической формы ЭВНИ на примере Свердловской области и крупного мегаполиса – г. Екатеринбурга, входящего в ее состав.

5.1 Уровень и возрастная структура заболеваемости энтеровирусным менингитом

Систематическое наблюдение за уровнем заболеваемости ЭВМ в Свердловской области и г. Екатеринбурге проводилось сотрудниками Свердловского научно-исследовательского института вирусных инфекций с 1970 года. По данным Ворошиловой М.К. (1979 г.), до 1977 г. в Свердловской области ЭВНИ в форме ЭВМ и других клинических форм регистрировали, как редкие локальные вспышки в детских организованных коллективах [12].

Однако, в период 1977-1995 гг. ЭВМ становится самой распространенной нозологией ЭВНИ с периодичностью эпидемических подъемов (циклическостью) 3-4 года и разницей в значениях показателей заболеваемости от $10^{\circ}/0000$ до $160^{\circ}/0000$ (Рисунок 55). С 1989 года уровень заболеваемости ежегодно снижался и достиг минимального значения в 1997г. ($1,16^{\circ}/0000$) [7]. По данным официальной статистики ЭВНИ в РФ с 2006 г. и по 2017 г. в Свердловской области и г. Екатеринбурге отмечено три пика заболеваемости ЭВМ (2007г., 2013г., и 2016г.).

Возрастной состав заболевших ЭВМ был неоднородным. При среднем показателе заболеваемости населения г. Екатеринбурга за 5 лет (2012 – 2016 гг.) $18,82^{\circ}/0000$, показатель заболеваемости у детей составил $89,08^{\circ}/0000$ (Таблица 25).

Группой риска по заболеваемости ЭВМ в детской популяции явилась возрастная группа от 3 до 6 лет с показателем $186,49^{\circ}/0000$, который в 2,1 раза превысил показатель заболеваемости среди детского населения ($89,08^{\circ}/0000$), в 9,9 раз среди всего населения г. Екатеринбурга ($18,82^{\circ}/0000$). Уровень заболеваемости

среди остальных возрастных групп детского населения был существенно ниже (11,2‰ в возрастной группе детей от 0 до 1 года, 11,2‰ - в группе от 1 года до 2 лет и 53,33‰ - от 7 до 17 лет).

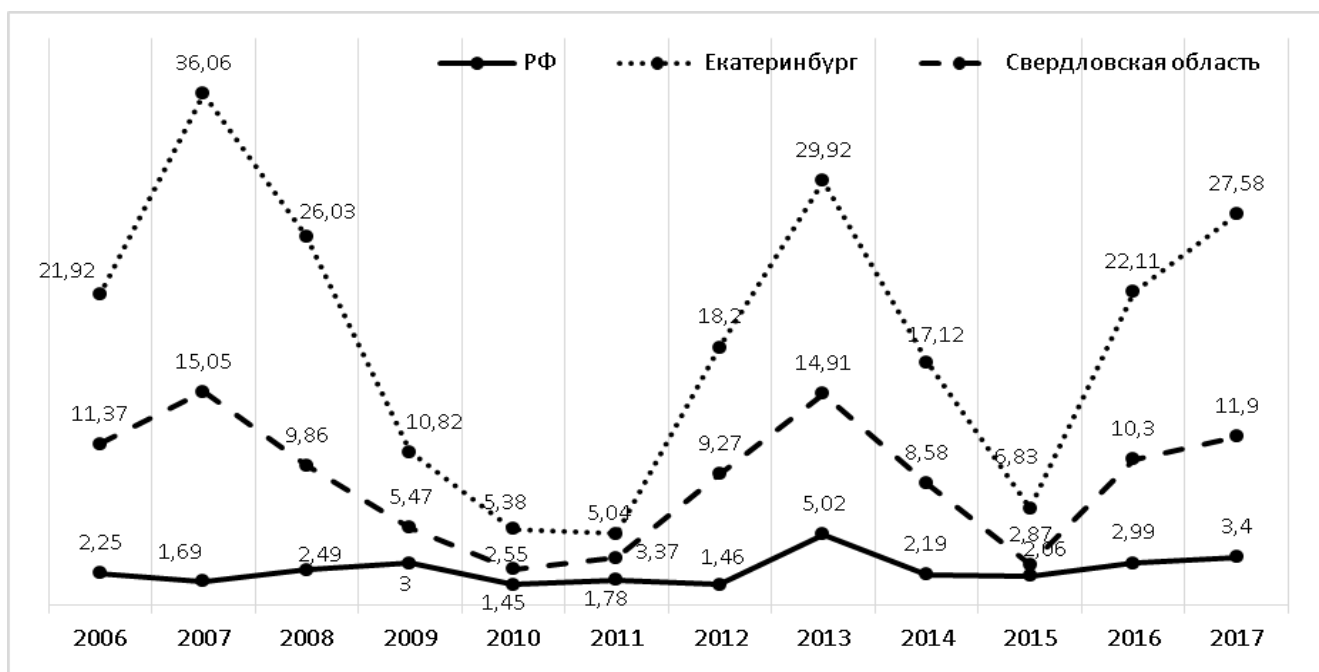


Рисунок 55. Заболеваемость энтеровирусным менингитом населения Российской Федерации, Свердловской области и г. Екатеринбурга в 2006-2017 гг. (сл./100 тыс. населения).

Таблица 25

Заболеваемость энтеровирусным менингитом в отдельных возрастных группах населения г. Екатеринбурга в 2012-2016 гг. (‰/0000)

Группа населения	Показатель заболеваемости (‰/0000)					2012-2016
	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	
Все жители	18,12	29,92	17,12	6,83	22,11	18,82
Дети 0-17 лет: в т.ч.	90,01	146,70	80,60	32,35	95,72	89,08
дети от 0 до 1г. 11 мес.	18,50	22,61	0,00	10,62	5,15	11,20
дети от 1 до 2 л. 11 мес.	30,12	63,88	16,47	18,38	21,70	30,11
дети от 3 до 6 л. 11 мес.	147,10	373,30	181,40	66,63	164,00	186,49
Дети от 7 до 17 лет	73,83	49,33	15,32	76,26	51,91	53,33

Высокая заболеваемость в группе детей 3-6 лет явилось основанием для обозначения ее как «индикаторной группы» населения с целью прогнозирования этиологии ЭВМ.

5.2 Особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди здоровых носителей (дети 3-6 лет)

Проведён анализ результатов исследований 4524 проб фекалий от «практически» здоровых детей в возрасте 3-6 лет в период с мая по декабрь 2011-2017 гг. (месяцы эпидемического подъема ЭВНИ) на предмет обнаружения НПЭВ (Таблица 26).

Таблица 26

Частота встречаемости неполиомиелитных энтеровирусов в фекалиях здоровых носителей возрастной группы 3-6 лет (г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.)

Год	Количество проб	Обнаружено НПЭВ			
		абс.	Сл./100	95 % ДИ*	
2011	237	24	10,1	6,9	10,1
2012	753	86	11,4	9,3	11,4
2013	630	62	9,8	7,8	9,8
2014	338	32	9,5	6,8	9,5
2015	567	88	15,5	12,8	15,5
2016	764	111	14,5	12,2	14,5
2017	1079	92	8,5	7,0	8,5
Всего:	4524	517	11,4	10,5	11,4

Примечание: * – 95 % доверительный интервал (95 % ДИ), вычисленный по методу Уилсона (Wilson CI for proportion).

Частота встречаемости НПЭВ в фекалиях представленной группы в период эпидемического подъема находилась в интервале от 8,5 (2017г.) до 15,5 (2015г.)

на 100 обследуемых лиц, среднемноголетний показатель составил- 11,4, что согласуется с данными Устюжанина А.В. [67, 68].

5.3 Сравнительная характеристика циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в группе «здоровых» носителей (дети 3-6 лет) и у больных энтеровирусным менингитом

Результаты наблюдения за уровнем заболеваемости ЭВМ и частотой вирусоносительства НПЭВ в группе детей (2011-2017 гг.) с разбивкой по месяцам представлены на рисунке 56.

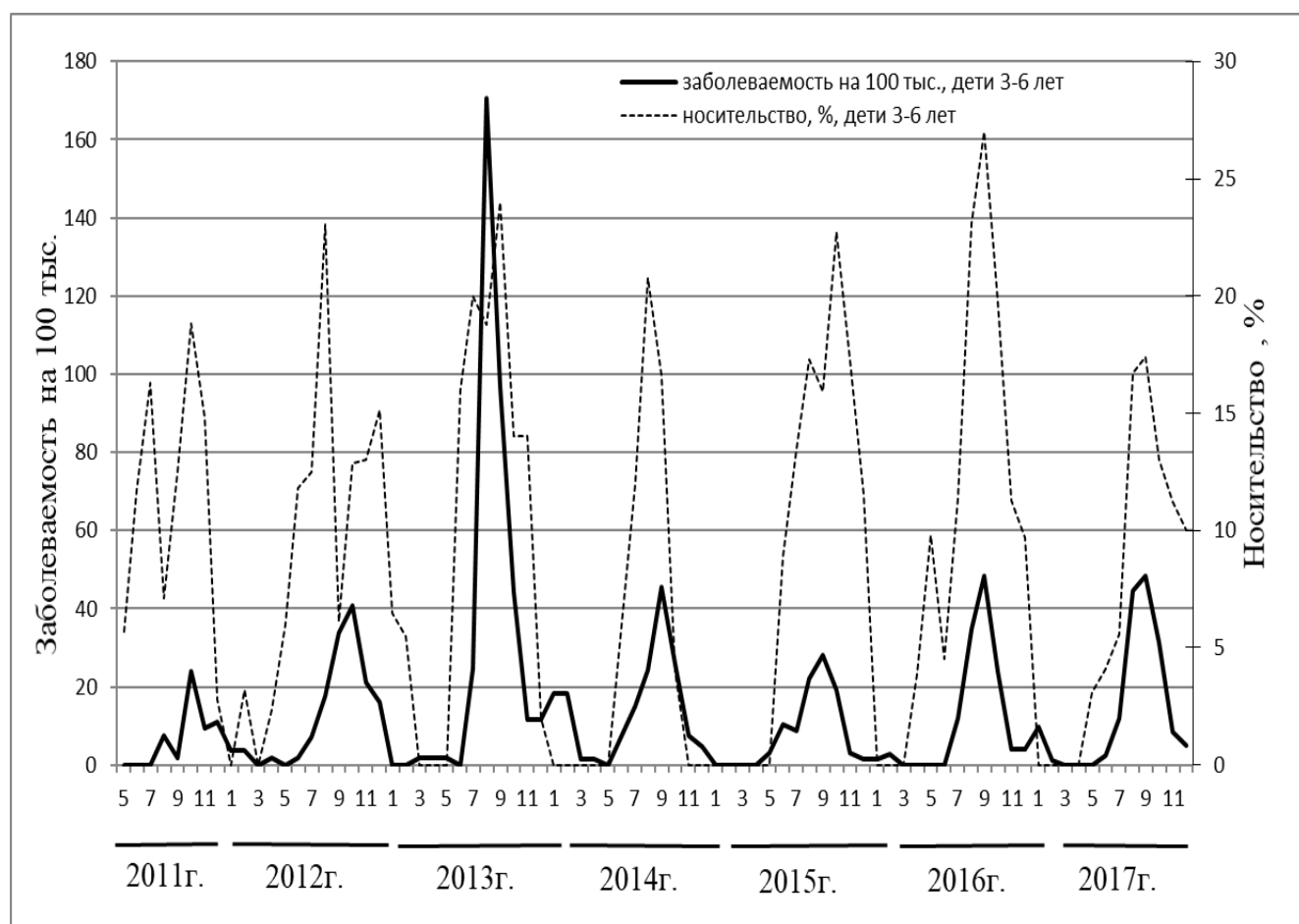


Рисунок 56 Заболеваемость энтеровирусным менингитом (сл./100 тыс.) и частота встречаемости (сл./100) неполиомиелитных энтеровирусов в фекалиях группы здоровых носителей (дети 3-6 лет) г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.

Следует отметить, что пиковые значения показателей вирусносительства НПЭВ находились в пределах от 18,2 до 27,0 сл./100. Временные промежутки достижения пиковых значений от начала регистрации вирусносительства, определяемые как скорость трансмиссии, НПЭВ имели интервалы от 3-х (2014г.) до 6-ти (2011г.) месяцев. В целом, можно отметить повторяющуюся динамику. Подъему заболеваемости ЭВМ всегда предшествовало увеличение частоты обнаружения НПЭВ в фекалиях «здоровых» детей 3-6 лет. Однако, сроки достижения пиковых значений между группами не всегда совпадали. Спектр обнаруженных серотипов возбудителей в индикаторной группе детей отличался разнообразием и из года в год претерпевал существенные изменения. (Таблица 27).

Таблица 27

Серотипы неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных из образцов фекалий «здоровых» носителей (дети 3-6 лет) и из ликвора больных энтеровирусным менингитом (г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.)

Год	Группа здоровых носителей (дети 3-6 лет)				Больные ЭВМ			
	Проб абс.	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)	Проб абс	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)
		Обнару- жены абс	Типи- рованы абс			Обнару- жены абс	Типи- рованы абс	
2011	237	24	9	CA1 (1) CA2 (3) CA5 (1) CA9 (1) CA13 (1) CA22 (1)	18	14	14	CA9 (8)
				-				E6 (3) E9 (1) E17 (1) E18 (1)
				EV77 (1)				-
2012	753	86	31	CA4 (2) CA9 (2) CA21 (1) CA22 (2)	177	162	162	CA9 (20)
				CB5 (1)				CB1 (9) CB2 (4) CB3 (2)

Продолжение Таблицы 27

Год	Группа здоровых носителей (дети 3-6 лет)			Больные ЭВМ				
	Проб абс.	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)	Проб абс	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)
		Обнаружены абс	Типированы абс			Обнаружены абс	Типированы абс	
				E3 (1) E6 (14) E18 (4) E25 (4)				CB4 (4) CB5 (4) E5 (4) E6 (73) E7 (18) E14 (2) E18 (20) E25 (1) E30 (1)
2013	630	62	33	CA2 (1) CA4 (4) CA5 (3) CA9 (1) CA17 (1) CA19 (1) CA21 (1) CA22 (2) CA24 (1) CB2 (1) CB3 (3) CB4(6) CB5 (1) E11 (2) E25 (1) E30 (4)	123	103	103	CA 9 (12) CB2 (7) CB3 (1) CB4 (1) CB5 (4) E6 (5) E9 (6) E11 (1) E14(1) E18 (7) E30 (58)
2014	338	32	9	CA4 (2) CA8 (1) CA22 (1) CA24 (1) CB5 (3) E14 (1)	40	40	40	CA9 (3) CB5 (11) E2 (1) E14 (1) E18 (1) 30 (22) EV97 (1)
2015	567	88	-	н.д.	4	4	4	CB5 (2) E3 (2) -
2016	764	111	30	CA1 (2) CA4 (2)	125	65	65	CA9 (4)

Продолжение Таблицы 27

Год	Группа здоровых носителей (дети 3-6 лет)			Больные ЭВМ				
	Проб абс.	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)	Проб абс	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)
		Обнаружены абс	Типированы абс			Обнаружены абс	Типированы абс	
				CA9 (4) CA10 (1) CA11 (1) CA19 (8) CA22 (1) CB4 (3) E3 (2) E9 (2) E25 (3) EV96 (1)				CB3 (2) CB4 (3) E2 (2) E6 (3) E9 (9) E14 (1) E18 (2) E25 (1) E30 (38) -
2017	1079	92	20	CA2 (4) CA5 (1) CA9 (1) CA19 (3) CA22 (1) CB3 (1) CB4 (2) E3 (2) E6 (1) E7 (2) E13 (1) E18 (1)	47	34	34	- CB5 (1) E9 (1) E13 (7) E30 (25)
Всего	4524	517	132	CA1 (3) CA2 (8) CA4 (10) CA5 (5) CA8 (1) CA9 (9) CA10 (1) A11 (1) CA13 (1) CA17 (1) CA19 (12) CA21 (2) CA22 (8) CA24 (2) CB2 (1) CB3 (4) CB4 (11)	534	422	422	CA9 (47) CB1 (9) CB2 (11) CB3 (5)

Окончание Таблицы 27

Год	Группа здоровых носителей (дети 3-6 лет)			Больные ЭВМ				
	Проб абс.	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)	Проб абс	Обнаружены и типированы НПЭВ		Серотипы (кол-во)
		Обнаружены абс	Типированы абс			Обнаружены абс	Типированы абс	
				СВ5 (5)			СВ4 (8) СВ5 (22)	
				Е3 (5) Е6 (15) Е7 (2) Е9 (2) Е11 (2) Е13 (1) Е14 (1) Е18 (5) Е25 (8) Е30 (4)			Е2 (3) Е3 (2) Е5 (4) Е6 (84) Е7 (18) Е9 (17) Е11 (1) Е13 (7) Е14 (5) Е17 (1) Е18 (31) Е25 (2) Е30 (144)	
				ЕV77 (1) ЕV96 (1)			ЕV97 (1)	

В образцах фекалий преобладали вирусы Coxsackievirus А - 48,5 %. Единственный серотип Coxsackievirus А9 из этой группы ежегодно встречался среди больных ЭВМ. Большинство серотипов энтеровирусов, обнаруженных в ликворе, составляли Echovirus – 75,6 %. (Таблица 28).

Таблица 28

Неполиомиелитные энтеровирусы в образцах фекалий «здоровых» носителей (дети 3-6 лет) и ликворе больных энтеровирусным менингитом (г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.)

Группа вирусов	Здоровые носители (дети 3-6 лет)		Больные ЭВМ	
	абс.	%	абс.	%
Coxsackievirus А	64	48,5	47	11,1
Coxsackievirus В	21	15,9	55	13,0
ЕCHO	45	34,1	319	75,6
ЕV	2	1,5	1	0,3
Всего:	132	100,0	422	100,0

Обращает внимание, что 13 из 14 идентифицированных серотипов Coxsackievirus A обнаруживали только в фекалиях здоровых детей. Coxsackievirus B2, B3, B4, B5 обнаруживали, как у больных ЭВМ, так и у здоровых носителей. Coxsackievirus B1 был выявлен только у больных ЭВМ (Таблица 29).

Таблица 29

Серотипы неполиомиелитных энтеровирусов у здоровых носителей (дети 3-6 лет) и у больных энтеровирусным менингитом (г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.)

Группа НПЭВ	Источник выделения штаммов		
	Здоровые носители (дети 3-6 лет)	Здоровые носители (дети 3-6 лет) и больные ЭВМ	Больные ЭВМ
Coxsackievirus A	1, 2, 4, 5, 8, 10, 11, 13, 17, 19, 21, 22, 24	9	-
Coxsackievirus B	-	2, 3, 4, 5	1
ЕСНО	-	3, 6, 7, 9, 11, 13, 14, 18, 25, 30	2, 5, 17
EV	77, 96	-	97

Десять из тринадцати идентифицированных серотипов вирусов ЕСНО (Е3, Е6, Е7, Е9, Е11, Е13, Е14, Е18, Е25, Е30) обнаруживались как у здоровых носителей, так и у больных ЭВМ.

В целом, в группе здоровых носителей НПЭВ (дети 3–6 лет) и среди больных ЭВМ был установлен высокий процент совпадений НПЭВ по представительству групп Coxsackievirus B и ЕСНО (Таблица 30).

Все серотипы Coxsackievirus B и ЕСНО (100,0 %), выделенные у пациентов с ЭВМ из ликвора, встречались в кишечнике здоровых носителей. В тоже время 83,6 % Coxsackievirus B и 97,5 % ЕСНО, колонизирующих кишечник здоровых детей, стали причиной развития ЭВМ.

Частота встречаемости совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от «здоровых» носителей (дети 3–6 лет) и от больных энтеровирусным менингитом (г. Екатеринбург, 2011–2017 гг.)

Группа вирусов	Группа здоровых носителей (дети 3–6 лет)			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ p-значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus А	64	9	14,1 [7,6–24,6]	47	47	100,0	$\chi^2(1) = 80,1$ $p < 0,0001$ ®
Coxsackievirus В	21	21	100,0	55	46	83,6 [71,7–91,1]	$\chi^2(1) = 3,9$ $p = 0,10$ ®
ЕСНО	45	45	100,0	319	311	97,5 [95,1–98,7]	$\chi^2(1) = 1,2$ $p = 0,61$ ®
EV	2	–	–	1	–	–	–
Всего:	132	75	56,8 [48,3–65,0]	422	404	95,7 [93,4–97,3]	$\chi^2(1) = 130,1$ $p < 0,0001$

Примечание: * – серотипы НПЭВ из кишечника детей здоровых носителей совпадали с серотипами НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ; ** – серотипы НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ совпадали с серотипами НПЭВ из кишечника «здоровых» носителей;

χ^2 – критерий хи-квадрат Пирсона; df – число степеней свободы; в квадратных скобках – 95 % доверительный интервал (95 % ДИ), вычисленный по методу Уилсона (Wilson CI for proportion); ® – оценка статистической значимости для слабонасыщенных таблиц (ячейки со значениями < 5 ($f_{ij} \leq 5$)) методом рандомизационной техники Монте-Карло ($n = 9999$).

Отметим, что установленный нами уровень сопоставимости серотипов НПЭВ в группе больных ЭВМ и «здоровых» носителей индикаторной группы (детей 3-6 лет) был получен при анализе данных за 7 лет (2011-2017 гг.). В отдельные годы наблюдения такая тенденция не прослеживалась. Так, по данным исследований, в 2017 г. (Таблица 31) уровень сопоставимости серотипов в группе ЕСНО не превысил 21,2 % (Таблица 32).

В связи с чем, был проведён дополнительный анализ за 4-6 лет. Полученные нами данные за 6-летний период наблюдения, относительно 7-летнего периода, свидетельствовали об близких результатах (Таблица 32).

Результаты совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от здоровых носителей (дети 3–6 лет) и от больных энтеровирусным менингитом (г. Екатеринбург, 2017 г.)

Группа вирусов	Здоровые носители (дети 3–6 лет)			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ p-значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus A	10	–	–	–	–	–	–
Coxsackievirus B	3	–	–	1	–	–	–
ECHO	7	1	14,3 [2,6–51,3]	33	7	21,2 [10,7–37,8]	$\chi^2(1) = 0,2$ p = 0,99®
EV	–	–	–	–	–	–	–
Всего:	20	1	5,0 [0,9–23,4]	34	7	20,6 [10,4–36,8]	$\chi^2(1) = 2,4$ p = 0,23

Примечание: * – серотипы НПЭВ из кишечника детей здоровых носителей совпадали с серотипами НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ; ** – серотипы НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ совпадали с серотипами НПЭВ из кишечника детей;

χ^2 – критерий хи-квадрат Пирсона; df – число степеней свободы; в квадратных скобках – 95 % доверительный интервал (95 % ДИ), вычисленный по методу Уилсона (Wilson CI for proportion); ® – оценка статистической значимости для слабонасыщенных таблиц (ячейки со значениями < 5 ($f_{ij} \leq 5$)) методом рандомизационной техники Монте-Карло ($n = 9999$).

Таблица 32

Частота встречаемости совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от «здоровых» носителей (дети 3–6 лет) и у больных энтеровирусным менингитом г. Екатеринбург, 2012–2017 гг.

Группа вирусов	Группа здоровых носителей (дети 3–6 лет)			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ p-значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus A	56	8	14,2 [7,4 - 25,7]	39	39	100,0 [91 - 100]	$\chi^2(1) = 67,6$ p < 0,0001®
Coxsackievirus B	21	21	100,0 [84,5 - 100]	55	46	83,6 [71,7–91,1]	$\chi^2(1) = 3,9$ p = 0,10®
ECHO	45	45	100,0 [92,1 - 100]	313	306	97,8 [95,5 - 98,9]	$\chi^2(1) = 1,0$ p = 0,61®
EV	1	-	-	1	-	-	
Всего:	123	74	60,2 [51,3 - 68,4]	408	345	84,5 [80,7 - 87,7]	$\chi^2(1) = 33,8$ p < 0,0001®

По Coxsackievirus B уровень совпадений в группе «здоровых» носителей относительно серотипов, выделенных от больных с ЭВМ составил 100,0 %, в группе больных ЭВМ относительно здоровых носителей - 83,6 % (данные аналогичны 7-летнему периоду). В группе ЕСНО - 100,0 % и 97,5 % (за 7-летний период 100,0 % и 97,8 %).

Результаты исследований за 5-летний период по Coxsackievirus B и ЕСНО по всем параметрам превысили 97,9 % (Таблица 33).

Таблица 33

Частота встречаемости совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от «здоровых» носителей (дети 3–6 лет) и от больных энтеровирусным менингитом г. Екатеринбург, 2013–2017 гг.

Группа вирусов	Группа здоровых носителей (дети 3–6 лет)			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ p-значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus A	49	6	12,2 [5,7 - 24,2]	19	19	100,0 [83,2 - 100]	$\chi^2(1) = 45,4$ $p < 0,0001$ ®
Coxsackievirus B	20	20	100,0 [83,9 - 100]	32	32	100,0 [89,3 - 100]	
ЕСНО	22	22	100,0 [85,1 - 100]	194	190	97,9 [94,8 - 99,2]	$\chi^2(1) = 0,5$ $p = 0,99$ ®
EV	1	-	-	1	-	-	
Всего:	92	48	52,2 [42,1 - 62,1]	246	241	97,7 [95,3 - 99,1]	$\chi^2(1) = 113,3$ $p < 0,0001$ ®

За 4-летний период наблюдения (2014-2017 гг.) результаты значительно уступали. По ЕСНО частота встречаемости совпадений серотипов упала до 86,7 %, в группе больных ЭВМ - до 35,9 % (Таблица 34).

Таким образом, оптимальным интервалом наблюдения за циркуляцией НПЭВ в кишечнике «здоровых» носителей (дети 3-6 лет) для прогноза этиологии ЭВМ можно считать период 5 лет.

Частота встречаемости совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от «здоровых» носителей (дети 3–6 лет) и у больных энтеровирусным менингитом г. Екатеринбург, 2014–2017 гг.

Группа вирусов	Группа здоровых носителей (дети 3–6 лет)			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ <i>p</i> -значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus А	44	1	2,3 [0,4 - 11,8]	7	7	100,0 [64,6 - 100]	$\chi^2(1) = 43,6$ $p < 0,0001^{\text{®}}$
Coxsackievirus В	9	9	100,0 [70,1 - 100]	19	19	100,0 [83,2 - 100]	
ЕСНО	15	13	86,7 [62,1 - 96,3]	131	47	35,9 [28,2 - 44,4]	$\chi^2(1) = 14,3$ $p = 0,0003^{\text{®}}$
EV	1	-	-	1	-	-	
Всего:	73	23	31,5 [22 - 42,9]	158	73	46,2 [38,6 - 54]	$\chi^2(1) = 4,4$ $p = 0,0455^{\text{®}}$

Анализ сопоставимости спектра серотипов НПЭВ, циркулирующих в популяции индикаторной группы (дети 3-6 лет) и штаммов из ликвора пациентов с ЭВМ, проведенный нами за период с 2011 по 2017 гг. установил общую повторяющуюся динамику циркуляции отдельных серотипов НПЭВ и пиковые циклические подъемы заболеваемости и носительства, преимущественно обусловленные группами Coxsackievirus В и ЕСНО.

5.4 Сравнительная характеристика циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в образцах сточных вод и у больных энтеровирусным менингитом

Проведен анализ результатов санитарно-вирусологических исследований проб сточных вод в г. Екатеринбурге за аналогичный период (с 2011 г. по 2017 г.) на предмет обнаружения НПЭВ (Таблица 35) и сравнение с результатами

молекулярно-генетического мониторинга НПЭВ, выделенных из ликвора пациентов с ЭВМ.

Таблица 35

Доля положительных результатов исследования сточных вод по обнаружению неполиомиелитных энтеровирусов в %
(г. Екатеринбург, 2011-2017 гг.)

Пробы сточных вод	Год							
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2011-2017
Исследовано (абс)	40	97	92	102	135	101	107	674
Выделено (абс)	-	3	2	6	8	2	8	29
Выделено (%)	-	3,1	2,2	5,9	5,9	2,0	7,5	4,3

За 7 лет (2011 – 2017 гг.) доля положительных проб имела существенные колебания, в среднем составила 4,3 % (изучено 674 объекта). Спектр НПЭВ в сточных водах г. Екатеринбурга и в ликворе больных с ЭВМ для их сравнительной характеристики представлен в Таблице 36

Таблица 36

Серотиповое разнообразие неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных из сточных вод г. Екатеринбурга и из проб ликвора больных с энтеровирусным менингитом (2011-2017 гг.)

Год	Сточные воды				Больные ЭВМ			
	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы
		абс.	%			абс.	%	
2011	40	-	-	-	18	14	14	СА9 (8)
				-				Е6 (3), Е9 (1), Е17 (1), Е18 (1)
				-				-
2012	97	3	1	-	177	162	162	СА 9 (20)
				СВ6 (1)				СВ1 (9), СВ2 (4), СВ3 (2), СВ4 (4), СВ5 (4)

Продолжение Таблицы 36

Год	Сточные воды			Больные ЭВМ				
	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы
		абс.	%			абс.	%	
				-				E5 (4), E6 (73), E7 (18), E14 (2), E18 (20), E25 (1), E30 (1)
2013	92	2	-	-	123	103	103	CA 9 (12)
				-				CB2 (7), CB3 (1), CB4 (1), CB5 (4)
				-				E6 (5), E9 (6), E11 (1), E14(1), E18 (7), E30 (58)
2014	102	6	6	-	40	40/97,5	40/100,0	CA9 (3)
				CB1-6 (3) CB5 (1) HTЭВ-В (1)				CB5 (11)
				E30 (1)				E2 (1), E14 (1), E18 (1), E30 (22)
				-				EV97 (1)
2015	135	8	7	CB1-6 (2) CB2 (2), CB3 (1), CB5 (1)	4	4	4	CB5 (2)
				E6 (1)				E3 (2)
				-				-
2016	101	2	2	-	125	65	65	CA9 (4)
				HTЭВ-В (1)				CB3 (2), CB4 (3)
				E13 (1)				E2 (2), E6 (3), E9 (9), E14 (1), E18 (2), E25 (1), E30 (38)
				-				-
2017	107	8	6	-	47	34	34	-
				CB1-6 (1)				CB5 (1)

Окончание Таблицы 36

Год	Сточные воды			Больные ЭВМ				
	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы	Кол-во проб	Обнаружены НПЭВ		Серотипы
		абс.	%			абс.	%	
				НТЭВ-В (5)				
				-				E9 (1), E13 (7), E30 (25)
				-				CA9 (47)
				CB1-6 (6) CB2 (2) CB3 (1) CB5 (2) CB6 (1) НТЭВ-В (7)				CB1 (9), CB2 (11), CB3 (5), CB4 (8), CB5 (22)
Всего	674	29	22	E6 (1) E13 (1) E30 (1)	534	422	422	E2 (3), E3 (2), E5 (4), E6 (84), E7 (18), E9 (17), E11 (1), E13 (7), E14 (5), E17 (1), E18 (31), E25 (2), E30 (144)
								EV97 (1)

Результаты свидетельствуют о более узком диапазоне серотипов НПЭВ, обнаруженных в сточных водах относительно ликвора (7 и 19 соответственно). Из 674 проб сочных вод удалось обнаружить НПЭВ лишь в 29 случаях, при этом определить серогруппу только в 22. Эффективность метода составила 4,3 %.

В сточных водах г. Екатеринбурга НПЭВ преимущественно были представлены группой Coxsackievirus B - 86,4 %, в ликворе преобладали вирусы ЕСНО - 75,6 % (Таблица 37).

Неполиомиелитные энтеровирусы, обнаруженные в пробах сточных вод
г. Екатеринбурга и в ликворе больных энтеровирусным менингитом
(2011-2017 гг.)

Группа вирусов	Сточные воды		Больные ЭВМ	
	абс.	%	абс.	%
Coxsackievirus A	-	-	47	11,1
Coxsackievirus B	19	86,4	55	13,0
ЕСНО	3	13,6	319	75,6
EV	-	-	1	0,3
Всего:	22	100,0	422	100

Среди Coxsackievirus B серотипы 2,3,5 обнаруживали как в сточных водах, так и у больных ЭВМ, серотипы 1,4 – только у больных ЭВМ (Таблица 38).

Из сточных вод были выделены штаммы энтеровирусов, которые не удалось идентифицировать до серотипа в реакции нейтрализации, в связи с чем они были нами обозначены, как Coxsackievirus B (1–6) и НТЭВ группы В.

Таблица 38

Серотипы неполиомиелитных энтеровирусов, выделенные из сточных вод
г. Екатеринбурга и из проб ликвора больных энтеровирусным менингитом
(2011-2017 гг.)

Группа НПЭВ	Источник выделения штаммов		
	Сточные воды	Сточные воды и больные ЭВМ	Больные ЭВМ
Coxsackievirus A	-	-	9
Coxsackievirus B	(1-6), 6, НТЭВ	2,3,5	1,4
ЕСНО	-	6,13,30	2,3,5,7,9,11,14,17,18,25
EV	-	-	97

* Нетипируемые энтеровирусы группы В

Большинство серотипов вирусов ЕСНО (2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17, 18, 25), обнаруживаемых в ликворе больных ЭВМ, не было выявлено в пробах сточных вод. В целом, в сточных водах и у больных ЭВМ совпадение вирусных изолятов по серотипу не прослеживалось (Таблица 39).

Результаты совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных из сточных вод г. Екатеринбурга и из проб ликвора больных энтеровирусным менингитом (2011–2017 гг.)

Группа вирусов	Сточные воды			Больные ЭВМ			$\chi^2(df)$ p-значение
	Выделено абс.	Совпали*		Выделено абс.	Совпали**		
		абс.	%		абс.	%	
Coxsackievirus A	–	–	–	47	–	–	–
Coxsackievirus B	19	5	26,3 [11,8–48,8]	55	38	69,1 [56,0–79,7]	$\chi^2(1) = 10,6$ p = 0,002®
ECHO	3	3	100,0	319	23 5	73,7 [68,6–78,2]	$\chi^2(1) = 1,1$ p = 0,58®
EV	–	–	–	1	–	–	–
Всего:	22	8	36,4 [19,7–57,1]	422	27 3	64,7 [60,0–69,1]	$\chi^2(1) = 7,2$ p = 0,01

Примечание: * – серотипы НПЭВ, выделенные из сточных вод, совпадали с серотипами НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ; ** – серотипы НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ совпадали с серотипами НПЭВ, выделенных из сточных вод;

χ^2 – критерий хи-квадрат Пирсона; df – число степеней свободы; в квадратных скобках – 95 % доверительный интервал (95 % ДИ), вычисленный по методу Уилсона (Wilson CI for proportion); ® – оценка статистической значимости для слабонасыщенных таблиц (ячейки со значениями < 5 ($f_{ij} \leq 5$)) методом рандомизационной техники Монте-Карло ($n = 9999$).

Лишь представители 73,7 % серотипов ECHO (E6, E13, E30), выделенных у пациентов с ЭВМ встречались в сточных водах.

Сравнительная оценка серотипов НПЭВ, обнаруженных в ликворе больных ЭВМ и в сточных водах позволила прийти к выводу о недостаточной эффективности использования результатов вирусологического мониторинга сточных вод для прогнозирования этиологии ЭВМ. Эти результаты не в полной мере отражали состав доминирующих вариантов возбудителя, определяющих высокий уровень заболеваемости наиболее тяжелой клинической формой инфекции - менингитом.

Таким образом, проведенные нами исследования, посвященные разным подходам к оценке риска развития неблагоприятной эпидемической ситуации по ЭВМ на примере исследования проб фекалий от индикаторной группы населения (дети 3–6 лет) и проб сточных вод, позволили сделать вывод о низкой

информативности результатов исследования сточных вод для прогнозирования этиологии ЭВМ.

В тоже время проведенные исследования установили высокий уровень сопоставимости серотипов НПЭВ, этиологически значимых при ЭВМ, с группой «здоровых» носителей (дети 3–6 лет) среди энтеровирусов Coxsackievirus В и ЕСНО. Так, при наблюдаемом общем разнообразии неполиомиелитных энтеровирусов в кишечнике здоровых детей, совпадения в группах Coxsackievirus В и ЕСНО имели место в 100,0 % и 97,9 % случаев при условии динамического мониторинга (5-летний период), что диктует необходимость проведения скрининговых исследований биологических материалов в индикаторных группах населения на постоянной основе и включение их в систему вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга.

5.5 Совершенствование методов серотипирования энтеровирусов с использованием клеточных культур животного происхождения

Известно, что внутривидовое типирование энтеровирусов во многих лабораториях проводится в реакции нейтрализации с типоспецифическими сыворотками. Данный метод предполагает предварительное выделение штаммов живого вируса с использованием чувствительных клеточных культур (преимущественно человеческого происхождения), однако данный способ не всегда реализуем из-за биологических особенностей некоторых энтеровирусов и этических соображений (ткани человека). Известно, что создание новых клеточных культур животного происхождения является актуальной вирусологической и биотехнологической задачей.

С целью получения новых клеточных линий животных были использованы эмбрионы от забракованной, охромевшей, клинически здоровой свиноматки из благополучного по эпидемической ситуации животноводческого хозяйства

Свердловской области. Изъятие и транспортировку детородного органа - матки с плодами проводили с соблюдением принципов этического кодекса «Международных рекомендаций по проведению биомедицинских исследований с использованием животных» (CIOMS).

Клеточные культуры гортани (ккГ), мышц (ккМ), почек (ккП), легких (ккЛ) эмбрионов свиньи II-триместра супоросности (эмбриональные клетки на поздней стадии развития) получены методом «щадящей» трипсинизации. При изучении воспроизводимости, предел Хейфлика клеток составил 20 – 26 пассажей.

С целью изучения цитопатогенного действия полученных клеточных линий использованы два штамма НПЭВ. Штамм СВ5-8100 – клинический изолят энтеровируса человека Coxsackievirus B5, выделен от пациента с серозным менингитом на культуре клеток рабдомиосаркомы человека (RD). Штамм E - 11/RD - клинический изолят энтеровируса человека Echovirus 11, выделен от пациента с серозным менингитом на диплоидной культуре клеток лёгкого эмбриона человека (ЛЭЧ-3) с последующей адаптацией к клеткам RD [69]. Принадлежность обоих штаммов хранящихся в музейной коллекции лаборатории энтеральных вирусных инфекций ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора по виду, типу и субтипу подтверждена молекулярно-генетическим методом.

При заражении клеточных культур ккГ, ккМ, ккП, ккЛ плодов свиньи штаммами СВ5-8100 и E - 11/RD концентрация вируса в вируссодержащей жидкости (ВСЖ) составляла 10^6 (ТЦД₅₀) в 200 мкл.

В результате первой серии опытов эксперимента изучена чувствительность ккГ, ккМ, ккП, ккЛ к штамму СВ5 – 8100, выявлена чувствительность у клеточной культуры почек (ккП) с показателем ЦПД - $87,5 \pm 4,7$ % (Таблица 40).

У ккГ ЦПД составил $37,5 \pm 4,7$ %, что характеризует культуру, как слабо чувствительную. Клеточные культуры ккЛ и ккМ проявили полную резистентность к штамму СВ5-8100, были нечувствительными.

Цитопатическое действие штамма энтеровируса *Coxsackievirus B5* (CB5-8100) на диплоидные культуры клеток плодов свиньи

Диплоидная клеточная культура	Цитопатическое действие энтеровируса <i>Coxsackievirus B5</i> (CB5-8100) %		
	1 пассаж (%±m)	2 пассаж (%±m)	3 пассаж (%±m)
Клеточная культура гортани (ккГ)	12,5±4,6	25±0,1	37,5±4,7
Клеточная культура мышц (ккМ)	-	-	-
Клеточная культура почек (ккП)	25±0,1	37,5±4,7	87,5±4,7
Клеточная культура легких (ккЛ)	-	-	-

Полученные результаты о наличии (отсутствии) чувствительности клеточных культур эмбрионов свиньи к CB5-8100 методом определения ЦПД на культуре клеток (классический метод) были дополнительно подтверждены методом ПЦР. Из представленных в таблице данных (Таблица 41) следует, что репликация РНК штамма CB5 – 8100 произошла только на культурах клеточных линий ккГ и ккП.

Таблица 41

Результаты амплификации энтеровирусной РНК (C_t) в пробах третьего пассажа клинического изолята энтеровируса *Coxsackievirus B5* (штамм CB5-8100) на диплоидных культурах клеток животного происхождения

№ строки	Клеточная культура	Проба	C_t
1	ккП	1	24,0*
2		2	22,0*
3	ккГ	1	33,4*
4		2	36,6*
5	ккМ	1	40,0 (критическое значение)
6		2	> 45,0
7	ккЛ	1	> 45,0
8		2	> 45,0

*- показатели выше критического значения свидетельствуют о наличии РНК вируса в клетке

Вторая серия опытов была посвящена изучению чувствительности клеточных культур к штамму E - 11/RD. Однако, в ходе эксперимента было установлено полное отсутствие чувствительности изучаемых клеточных линий ккГ, ккМ, ккП, ккЛ к штамму E - 111/RD.

Таким образом, в ходе эксперимента, была выявлена чувствительность диплоидных клеточных культур почки (ккП) и гортани (ккГ) к штамму энтеровируса *Coxsackievirus B5* (CB5-8100) и отсутствие таковой у культур клеток мышц (ккМ) и легких (ккЛ). Полученные результаты будут в дальнейшем использованы для паспортизации полученной клеточной культуры почки (ккП), как перспективной культуры в вирусологической практике с целью диагностики энтеровирусной инфекции, обусловленной актуальным и распространенным на территории РФ штаммом НПЭВ – *Coxsackievirus B5*.

5.6 Совершенствование методов внутривидового генотипирования энтеровирусов

Внедрение в лабораторную практику молекулярно-биологических методов (амплификация нуклеиновых кислот методом ПЦР, секвенирование) позволило значительно упростить и ускорить этот процесс, сделать его более чувствительным и специфичным. В настоящее время известны несколько способов генотипирования энтеровирусов методом прямого секвенирования фрагмента структурной части генома. В их числе генотипирование методом секвенирования фрагментов 1В или 1D участка генома энтеровируса, кодирующих белки VP2 или VP1 [100] генотипирование методом секвенирования фрагмента 1А-1В участка генома, кодирующего структурные белки VP4-VP2 [82] генотипирование методом секвенирования фрагмента 1D участка генома, кодирующего структурный белок VP1 [220].

Все эти методы позволяют определить генотип энтеровируса путем амплификации и прямого секвенирования фрагмента структурной части генома с последующим сравнением полученных результатов с нуклеотидными последовательностями ранее генотипированных штаммов. Однако, в качестве целевого фрагмента для амплификации и дальнейшего секвенирования различные методы используют участки структурной части генома, отличающиеся локализацией, вариабельностью и размерами, а также разными режимами проведения ПЦР и специфичными праймерами.

Наиболее близким прототипом данному способу является метод генотипирования с использованием однораундовой амплификации прямого секвенирования фрагмента 1А-1В участка генома, кодирующего структурные белки VP4-VP2. Указанный метод использует однораундовую ПЦР для амплификации целевого участка генома с одной из двух комбинаций праймеров: 5'TCCTCCGGCCCCTGAATG3' и 5'GGCAACTTCCACCACCACC3', либо 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3' и 5'GGCAACTTCCACCACCACC3' [82]. Учитывая высокую изменчивость энтеровирусов, применение такого целевого фрагмента однораундовой ПЦР с описанными «устаревшими» праймерами существенно снижает чувствительность данного метода при генотипировании современных штаммов энтеровирусов человека разных видов. В связи с этим, поставленная задача заключалась в разработке более чувствительного метода генотипирования энтеровирусов. В этой связи, для амплификации целевого фрагмента энтеровируса вместо однораундовой ПЦР применили "полуvloженную" ПЦР с использованием вырожденного праймера. Первый раунд "полуvloженной" ПЦР проводили с комбинацией праймеров: 5'TCCTCCGGCCCCTGAATG3' и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3', второй раунд - с комбинацией праймеров: 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3' и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3'. Таким образом, способ генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома отличался тем, что после выделения вирусной РНК, получали кДНК, которую в дальнейшем использовали в качестве матрицы при постановке реакции "полуvloженной" ПЦР.

Для проведения первого раунда "полуvloженной" ПЦР готовили 25 мкл реакционной смеси, включающей: 2 ед. ДНК-полимеразы, 0,2 mM смеси dNTP, 5 pmol и 20 pmol праймеров 5'TCCTCCGGCCCCTGAATG3' и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3' соответственно, реакционный буфер: 67 mM Трис-НСl, рН 8,3, 2,0 mM MgCl₂ и 10 мкл кДНК. ПЦР проводили по схеме: 1 цикл (95°C - 5 минут); 42 цикла (95°C - 20 секунд, 55°C - 1,5 минуты, 72°C - 40 секунд), заключительный цикл (72°C - 5 минут). Во втором раунде "полуvloженной" ПЦР использовали аналогичную реакционную смесь с праймерами 5pmol - 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3', и 20 pmol - 5' GGIARYTTCCAIYACCAICCC3' и 1 мкл амплификата, полученного в предыдущей реакции. Схема проведения второго раунда: 1 цикл (95°C - 5 минут); 30 циклов (95°C - 20 секунд, 58°C - 1 минута, 72°C - 40 секунд); 1 цикл (72°C - 5 минут). Секвенирование ампликонов осуществляли на автоматическом генетическом анализаторе 3130 Genetic Analyzer в прямой и обратной последовательности с праймерами 5'TACTTTGGGTGTCCGTGTTTC3' (для прямой последовательности) и 5'GGIARYTTCCAIYACCAICCC3' (для обратной). Генотипирование обнаруженных энтеровирусов осуществляли с помощью программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) методом сравнительного анализа последовательностей, полученных после секвенирования ампликонов, с последовательностями геномов энтеровирусов из международной базы генетических данных NCBI GenBank.

Новый способ генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома защищен патентом на изобретение RU 2701145 (дата регистрации 25.09.2019). Представленное изобретение относится к области молекулярной биологии, лабораторной диагностики, вирусологии и эпидемиологии, и предназначено для определения типовой таксономической принадлежности (внутривидового типирования) энтеровирусов, обнаруженных в образцах клинического материала или в пробах из объектов окружающей среды методом прямого секвенирования фрагмента структурной части их генома с последующим сравнением полученных в результате этого нуклеотидных

последовательностей с нуклеотидными последовательностями структурной части генома ранее генотипированных энтеровирусов, либо с нуклеотидными последовательностями, депонированными в международных базах данных генетической информации.

Представленный выше метод был внедрен в работу Урало-Сибирского научно-методического центра по изучению энтеровирусной инфекции (ЕНМЦ) на базе ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора.

По итогам 2018 года в ЕНМЦ для определения пейзажа циркулирующих энтеровирусов методом секвенирования с изучаемых территорий поступил материал от 489 пациентов и контактных лиц. По результатам молекулярно-генетических исследований генотип НПЭВ определен в 402 образцах биологического материала, что составило 82,2 % от числа присланных проб (Таблица 42). За счет внедрения разработанной методики показатель вырос относительно 2017 года на 21,3 % (60,9 %).

В международную базу данных генетической информации NCBI GenBank депонированы 43 нуклеотидных последовательностей неполиомиелитных энтеровирусов МК639188 – МК639230 из коллекций штаммов, выделенных от больных ЭВНИ в 2017-2018 гг. (МК639230, МК639229, МК639228, МК639227, МК639226, МК639225, МК639224, МК639223, МК639222, МК639221, МК639220, МК639219, МК639218, МК639217, МК639216, МК639215, МК639214, МК639213, МК639212, МК639211, МК639210, МК639209, МК639208, МК639207, МК639206, МК639205, МК639204, МК639203, МК639202, МК639201, МК639200, МК639199, МК639198, МК639197, МК639196, МК639195, МК639194, МК639193, МК639192, МК639191, МК639190, МК639189, МК639188).

**Эффективность нового метода молекулярно-генетического типирования
энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома**

№ п/п	Наименование территории	Биологические пробы от пациентов					
		2017 г.			2018 г.		
		Обслед- овано	Тип определен	%	Исслед- овано	Тип определен	%
1	Свердловская область	115	75	65,2	82	77	93,9
2	Челябинская область	43	26	60,5	21	12	57,1
3	Тюменская область	72	41	56,9	20	18	90,0
4	Курганская область	55	30	54,5	46	35	76,0
5	Ханты-мансийский автономный округ	72	46	63,9	109	91	83,4
6	Ямало-ненецкий автономный округ	30	14	46,7	39	30	76,9
7	Омская область	42	30	71,4	33	27	81,8
8	Гомская область	32	14	43,8	48	37	77,1
9	Новосибирская область	42	30	71,4	29	25	86,2
10	Кемеровская область	42	28	66,7	50	40	80,0
11	Алтайский край	12	5	41,7	12	10	83,3
ИТОГО:		557	339	60,9	489	402	82,2

В их числе Coxsackievirus A10 – 2, Coxsackievirus A16 – 3, Coxsackievirus A2 – 1, Coxsackievirus A22 – 1, Coxsackievirus A6 – 5, Coxsackievirus A9 – 3, Coxsackievirus A8 – 1, Coxsackievirus B5 – 5, Coxsackievirus B4 – 2, Echovirus E14 – 2, Echovirus E18 – 1, Echovirus E25 – 2, Echovirus E6 – 6, Echovirus E30 – 3, Echovirus E3 – 1, Echovirus E4 – 1, Echovirus E9 – 1, Echovirus E7 – 1, Enterovirus C104 – 1, Enterovirus A71 – 1.

Таким образом, усовершенствованный метод внутривидового типирования НПЭВ, обнаруженных в клиническом материале, позволил улучшить качество лабораторной диагностики. Вместе с новыми клеточными культурами животного происхождения открываются новые возможности для широкого использования этих перспективных методик в вирусологии и молекулярной биологии.

ГЛАВА 6 РОЛЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ РАССЛЕДОВАНИИ ОЧАГОВ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ НЕПОЛИОМИЕЛИТНЫМИ ЭНТЕРОВИРУСАМИ

Как показали проведенные исследования, именно очаги групповой заболеваемости и циркулирующие в них серотипы НПЭВ определяют высокую интенсивность эпидемического процесса на территориях, поскольку непрерывная циркуляция возбудителя является важнейшим условием реализации им патогенного потенциала. В связи с этим, перспективным направлением, оптимизации мониторинга и эпидемиологической диагностики, является совершенствование программного обеспечения [61].

Для подтверждения или опровержения гипотезы о причинах заболеваемости ЭВНИ, а также определения реального (или максимально приближенного к реальному) уровня заболеваемости, а также обоснованного разделения случаев заболевания на входящие в число множественных очагов и спорадические случаи необходима новая информационная система, обрабатывающая количественные и качественные характеристики эпидемического процесса.

Известно, что эффективность информационных систем, действующих в рамках эпидемиологического надзора, оценивают по таким важным критериям как чувствительность, специфичность, позитивная прогностическая ценность, репрезентативность, своевременность (оперативность), простота, гибкость, приемлемость и стоимость [115].

Для обеспечения высокой чувствительности информационной системы на всех уровнях обработки данных должен соблюдаться принцип избыточности: внесение максимально-возможного количества информации о случаях инфекционных заболеваний, в том числе имеющих минимум симптомов, характерных для ЭВНИ, а также максимально подробный эпидемиологический анамнез.

Исходя из указанных выше принципов, было разработано задание на проектирование и алгоритм работы информационной системы эпидемиологической диагностики ЭВНИ (ИСЭД ЭВНИ).

6.1 Общие положения о цели информационной системы

Цели разрабатываемой информационной системы:

- автоматизация процессов сбора, систематизации оперативной информации о случаях заболевания ЭВНИ, с учётом данных эпидемиологического анамнеза, клинических симптомов и лабораторных показателей;
- оперативное информирование участников процесса о лабораторном подтверждении и этиологической расшифровке случаев ЭВНИ;
- расчёт вероятности принадлежности случая инфекционного заболевания к ЭВНИ на основе клинических, эпидемиологических и лабораторных данных;
- регистрация реальной (или близкой к реальной) заболеваемости ЭВНИ;
- объединение эпидемиологически связанных случаев ЭВНИ в очаги групповой заболеваемости;
- определение критических объектов социальной инфраструктуры, в которых возникает высокий риск массового распространения НПЭВ, для принятия управленческих решений по организации противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Особенностью представленной информационной системы является аналитическая обработка загруженных данных с элементами машинного обучения, которая в соответствии с заданными параметрами проведёт дифференциальную диагностику ЭВНИ.

Мониторинг максимально возможного количества случаев заболевания возможен только при персонифицированной регистрации каждого случая,

сопровождающегося симптомами и синдромами, способными вызвать заболевание.

Формирование ежемесячной отчётности в соответствии с формами федерального государственного статистического наблюдения происходит в подсистеме отчётности. Миграция случая заболевания из персонализированной системы оперативного анализа в подсистему отчётности происходит на основании единых настроек, установленных для всех территорий, подключенных к информационной системе.

Все случаи заболевания ЭВНИ в системе делят на подтверждённые и потенциально возможные. Вероятность наличия у пациента ЭВНИ рассчитывается на основании встроенных в систему математических моделей с учётом единых настроек и характеризуется непрерывной величиной в диапазоне от 0 до 1.

Подтверждённые случаи ЭВНИ также имеют параметр вероятности равный единице. Подтверждёнными считают случаи ЭВНИ, при которых имеются положительные результаты лабораторных исследований биологического материала из локуса поражения, проведенные с использованием молекулярно-генетических или вирусологических методов: при энтеровирусных менингитах из ликвора, при поражении верхних дыхательных путей – смывы со слизистой ротоглотки (носоглотки), при поражении кожи – из первичных элементов (везикул), при энтеритах – из кишечника. Учитывая высокую тропность всех энтеровирусов к эпителию кишечника, исследование фекалий должно проводиться при любой локализации патологического процесса.

Отсутствие лабораторного подтверждения или отрицательный результат исследований на энтеровирусы при отсутствии обнаружения в локусах других возбудителей, не могут влиять на вероятность признания НПЭВ в качестве этиологического агента. В такой ситуации вероятность ЭВНИ рассчитывают на основе клинико-эпидемиологических критериев. Значимость указанных критериев не является постоянной и уточняется по мере накопления статистических данных под контролем научно-методического центра по изучению ЭВНИ.

В случае если пациент по истечении 2-х инкубационных периодов так и не был отнесён к группе лиц из очага групповой заболеваемости, он получает статус спорадического случая. В свою очередь, спорадическому случаю без лабораторного подтверждения в соответствии с п. 5.1.1 Методических указаний МУ 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» присваивают вероятность наличия НПЭВ, равную нулю.

Совокупность указанных подходов обеспечит для информационной системы высокую чувствительность, позитивную прогностическую ценность, а также специфичность.

6.2 Участники информационной системы и уровни обработки данных

На современном этапе отсутствует возможность межведомственной интеграции информационных систем на региональном уровне. В связи с чем, информация из лечебно-профилактических учреждений записывается и передаётся в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора на бумажных носителях, где происходит её непосредственный ввод в информационную систему.

Участниками системы являются:

- медицинские учреждения, оказывающие медицинскую помощь прикрепленному населению в рамках государственного или муниципального задания;
- Управления Роспотребнадзора;
- Центры гигиены и эпидемиологии;
- Научно-методический центр по изучению энтеровирусных инфекций.

Взаимодействие участников системы осуществляется на основании соглашения об обмене информацией с целью предупреждения распространения инфекционных заболеваний в соответствии с пунктом 4 статьи 13 Федерального

закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и пунктом 3 статьи 33 Федерального закона от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

Стационарные автоматизированные рабочие места (АРМ), подключенные к ИСЭД ЭВНИ, размещаются в медицинских организациях (АРМ инфекциониста, АРМ лаборатории) в центрах гигиены и эпидемиологии (АРМ эпидемиолога, АРМ лаборатории), в Управлениях Роспотребнадзора (АРМ администратора, АРМ эпидемиолога), а также в научно-методическом центре по изучению ЭВНИ (АРМ администратора, АРМ НМЦ).

Мобильными «АРМ эпидемиолога» необходимо оснастить должностных лиц, уполномоченных осуществлять эпидемиологическое расследование в эпидемических очагах.

Программно-аппаратное обеспечение работы ИСЭД ЭВНИ будет разработано и эксплуатироваться в соответствии с требованиями законодательства по защите конфиденциальной информации.

Оператором по обработке персональных данных лиц, информация о которых содержится в системе ИСЭД ЭВНИ, является Управление Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации.

Передача данных между рабочими местами и центром обработки данных (ЦОД) осуществляется через сеть Интернет внутри шифрованного канала передачи данных, организованного при помощи сертифицированных ФСТЭК технических средств криптографической защиты информации.

6.3 Данные, собираемые в информационную систему на различных уровнях обработки

В ИСЭД ЭВНИ необходимо обрабатывать следующие данные:

- идентификаторы пациента (контактный), в том числе ФИО, дата рождения, пол, СНИЛС;
- перечень учреждений (организаций);
- связь пациента (контактного) с учреждениями;
- клинические симптомы инфекционных заболеваний двух категорий: соответствующие ЭВНИ, не соответствующие ЭВНИ;
- результаты клинических лабораторных и инструментальных исследований пациента;
- результаты молекулярно-генетических исследований для этиологической расшифровки случая инфекционного заболевания (ПЦР для выявления в биологическом материале РНК энтеровирусов, генотипирование);
- эпидемиологически значимые события (условия возможного заражения): наименование события, дата, место, включая адрес и географические координаты;
- виды, серотипы, генотипы и субтипы возбудителей ЭВНИ;
- перечень диагнозов клинических форм ЭВНИ;
- перечень учреждений, подключенных к ИСЭД ЭВНИ.

Фамилию, имя, отчество, пол, дату рождения пациента указывают полностью на основании документов, удостоверяющих личность. Дату рождения указывают в формате день, месяц, год. При указании пола предусмотрена кодировка «мужской» или «женский». При регистрации нового пациента производят поиск и проверку на уникальность регистрируемого лица среди ранее зарегистрированных пациентов. Повторно физическое лицо в системе не регистрируют.

Адрес проживания, адрес расположения организаций хранят в системе, как набор уникальных идентификаторов адресных объектов Федеральной информационной адресной системы (ФИАС) и географические координаты (долгота, широта) адресных объектов.

Результаты лабораторных исследований включают дату проведения исследования, идентификатор учреждения-исполнителя и протокол результата исследований в формате HL7.

Справочник образовательных учреждений включает в себя наименование, вид деятельности и адрес, по которому осуществляет деятельность образовательное учреждение (дошкольные, среднего, среднего специального и высшего профессионального образования).

Справочник медицинских учреждений включает в себя наименование, вид медицинской помощи (амбулаторно-поликлинические, стационары, клиничко-диагностические) и адрес, по которому осуществляет деятельность медицинское учреждение.

Под эпидемиологически значимым событием подразумевают событие, связанное с риском заражения пациента (контактного) и с риском распространения инфекции. Для пациентов регистрируют события в сроки возможного заражения, включая появление первых симптомов. Для контактных – в течение максимального инкубационного периода до появления первых симптомов у пациента, с которым была выявлена эпидемиологическая связь (в период заразности). Справочник эпидемиологически значимых событий включает в себя базовый набор:

- проживание по основному месту жительства;
- проживание по дополнительному месту жительства;
- посещение лечебно-профилактического учреждения;
- посещение образовательного учреждения;
- посещение места работы;
- посещение мероприятий с массовым скоплением людей;

- употребление еды, воды, напитков предоставленных предприятиями общественного питания, кейтеринговыми организациями (местом события является адрес организации);

- употребление еды, воды, напитков при посещении родственников, друзей, знакомых;

- употребление воды из децентрализованных источников (местом события является адрес источника).

Система способна обрабатывать данные о более коротких событиях (посещение, магазинов, салонов, использование общественного транспорта и др.) при наличии оперативного получения данных от операторов сотовой связи. Поступление таких данных должно осуществляться в автоматическом режиме.

Справочник диагнозов для указания предварительного, уточненного и подтвержденного диагноза содержит буквенно-цифровой код заболевания или состояния по МКБ-10 (Таблица 43).

Таблица 43

Перечень клинических диагнозов энтеровирусной (неполио) инфекции, регистрируемых в информационной системе (ИСЭД ЭВНИ)

Код по МКБ-10	Расшифровка кода	Синонимы
A87.0	Энтеровирусный менингит	Серозный менингит
B08.5	Энтеровирусный везикулярный фарингит; Герпетическая ангина	Герпангина
B08.4	Энтеровирусный везикулярный стоматит с экзантемой; Вирусная пузырчатка полости рта и конечностей	Энтеровирусный стоматит
B08.5	Энтеровирусный везикулярный фарингит	Катаральная (респираторная) форма, ЭВИ по типу ОРВИ
B08.8	Энтеровирусный лимфонодулярный фарингит	
B34.1	Энтеровирусная инфекция неуточненной локализации; Инфекция, вызванная вирусом Коксаки; без дополнительного уточнения (БДУ); Инфекция, вызванная ЕСНО-вирусом, БДУ	Малая болезнь (Коксаки- и ЕСНО-лихорадка; трёхдневная, или неопределённая, лихорадка; «летний грипп»); ЭВИ по типу ОРВИ

Окончание Таблицы 43

Код по МКБ-10	Расшифровка кода	Синонимы
A08.3	Другие вирусные энтериты, гастроэнтерит, ассоциированный с НЭВ (энтеровирусная диарея)	Энтеровирусная диарея (вирусный гастроэнтерит, «рвотная болезнь»)
A88.0	Энтеровирусная экзантематозная лихорадка (бостонская экзантема)	Энтеровирусная экзантема (эпидемическая, или бостонская, экзантема, а также кореподобная и краснухоподобная экзантемы)
A85.0	Другие вирусные энцефалиты, не классифицированные в других рубриках; энцефаломиелит не классифицируемый в других рубриках (НКДР); менингоэнцефалит НКДР	Энтеровирусный энцефалит; энтеровирусный энцефаломиелит
B30.3	Острый эпидемический геморрагический конъюнктивит (энтеровирусный); конъюнктивит, вызванный: вирусом Коксаки типа 24, энтеровирусом типа 70; геморрагический конъюнктивит (острый) (эпидемический)	Эпидемический геморрагический конъюнктивит
B33.0	Эпидемическая миалгия; болезнь Борнхольма	Эпидемическая миалгия (плевродиния, болезнь Борнхольма)
B97.1	Энтеровирусы как причина болезней, классифицированных в других рубриках; вирус Коксаки. ЕСНО-вирус	Перикардиты и миокардиты
G83.9	Паралитический синдром неуточненный	Паралитическая форма (спинальная, полиомиелитоподобная)

В информационной системе содержится 10 логически или физически разделённых баз данных (Таблица 44).

Таблица 44

Перечень баз данных в информационной системе (ИСЭД ЭВНИ)

Сокращение	Наименование	Функционал
БД#1	Справочники	Содержит справочники объектов (детские образовательные учреждения, детские оздоровительные лагеря, адреса семейных очагов, ЛПУ, прочих организаций с массовым скоплением людей, геопозиции объектов, МКБ-10, перечень симптомов, перечень лабораторных и инструментальных исследований, перечень эпидемиологически значимых событий). Формируется и пополняется администратором ИСЭД ЭВНИ.
БД#2	Связи	Содержит информацию об эпидемиологических связях между больными ЭВНИ, лицами, находившимися в эпидемическом контакте, и вирусовыделителями. Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой.

Окончание Таблицы 44

Сокращение	Наименование	Функционал
БД#3	Симптомы	Содержит информацию о: - симптомах, зарегистрированных у больных ЭВНИ; - наборе симптомов, характерных для каждого мониторируемого вида и генотипа энтеровирусов; - симптомах, которые наряду с типичными проявлениями ЭВНИ требуют снятия предварительного диагноза ЭВНИ. Формирование базы данных осуществляется на основе анализа данных специалистами научно-методического центра по изучению ЭВНИ.
БД#4	Риски	Содержит множество значений рисков заражения больного (контактного, вирусовыделителя) мониторируемыми видами энтеровируса. Риски представляются в виде вероятности, рассчитанной: - для больных по симптомам и факторам риска заражения; - для лиц, находившихся в эпидемическом контакте и вирусовыделителей – только по факторам риска заражения. Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой.
БД#5	ПЦР	Содержит результаты выявления РНК энтеровирусов методом ПЦР, а также данные об используемых тест-системах. Наполняется с использованием «АРМ Лаборатория».
БД#6	Генотипы	Содержит информацию о видах и генотипах энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ и вирусовыделителей Наполняется с использованием «АРМ НМЦ».
БД#7	Графы	Содержит информацию об эпидемических очагах ЭВНИ представленных в виде графов. Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой.
БД#8	ФЛ (физические лица)	Содержит информацию об идентифицированных лицах, вовлечённых в эпидемический процесс. Заполняется сведениями автоматически при занесении в ИСЭД ЭВНИ стандартного набора первичной информации о случае.

6.4 Алгоритм анализа эпидемиологических данных, введенных в информационную систему

Основными событиями, с которых начинается ввод данных в информационную систему, являются случай инфекционного заболевания у нового пациента с подозрением на ЭВНИ, либо выявление нового контактного

лица в очаге. Оба варианта на данном этапе представляют собой неопределённую вероятность вирусывыделения и распространения инфекции. В предлагаемом алгоритме лицо, имеющее симптомы инфекционного заболевания, характерные для ЭВНИ, будет иметь статус «пациент» до того момента, пока в процессе поступления и (или) анализа новых данных вероятность наличия у него НПЭВ не достигнет уровня, определённого научно-методическим центром по изучению ЭВНИ, например, 0,8 и выше. После того, как вероятность наличия НПЭВ достигнет приемлемого уровня, статус случая меняется с «пациента» на «больного ЭВНИ». Аналогичным образом меняется статус лиц, имевших эпидемиологическую связь с больным: с «неподтверждённый контактный» на «контактный» (при $p < 1$) или «вирусывыделитель» (при $p = 1$).

Существуют два варианта выявления пациентов с инфекционным заболеванием – активное и пассивное.

Активное выявление производит должностное лицо, уполномоченное проводить эпидемиологическое расследование или осуществлять выявление случая в эпидемическом очаге. Эпидемиологическое расследование осуществляют с использованием мобильного автоматизированного рабочего места эпидемиолога («АРМ эпидемиолога»). При этом «АРМ эпидемиолога» работает не только как инструмент для занесения данных, но и как справочная система, предоставляющая информацию из ИСЭД ЭВНИ о лицах, имевших эпидемиологическую связь с больным и/или вирусывыделителем.

Сведения об активно выявленных «пациентах» и «неподтверждённых контактных» заносятся в систему немедленно при выявлении (далее по мере поступления информации) и содержат следующий стандартный набор первичных данных о случае:

- фамилия, имя отчество;
- дата рождения;
- номер СНИЛС;
- вид случая (пациент, неподтверждённый, контактный)
- эпидемиологически значимые события;

- клинические симптомы, результаты лабораторных и инструментальных исследований;

- предварительный диагноз (МКБ-10).

Симптомы заболевания у каждого пациента вводят путем выбора симптомов, зафиксированных у пациента, из формализованного справочника (БД#1). Справочник симптомов и клинических проявлений содержит симптомы, характерные для многих инфекционных заболеваний, в том числе специфические симптомы, характерные для ЭВИ.

На пациентов и неподтверждённых контактных лиц формируется направление на лабораторное исследование с целью определения в биологическом материале РНК НПЭВ методом ПЦР. Биологический материал забирают из локусов поражения, одновременно осуществляют отбор проб фекалий.

Выявленных пациентов, больных ЭВИ и вирусовыделителей изолируют, пациентов (больные ЭВИ) направляют для амбулаторно-поликлинического или стационарного лечения.

Пассивное выявление происходит при самостоятельном обращении граждан за медицинской помощью.

Новых пациентов с симптомами ЭВИ регистрируют в ИСЭД ЭВИ сотрудники медицинских организаций первичного звена в процессе обращения за медицинской помощью, неподтверждённых контактных – при сборе эпидемиологического анамнеза. В случае обеспечения межведомственного взаимодействия в регионе и наличия в медицинской организации автоматизированного стационарного рабочего места инфекциониста ИСЭД ЭВИ («АРМ инфекциониста») сведения о «пациентах» и «неподтверждённых контактных» заносят в систему при обращении пациента, установлении случая (далее по мере поступления информации) и содержат стандартный набор первичной информации (см. выше). В случае отсутствия в медицинской организации «АРМ инфекциониста», данные сведения заносят в расширенное экстренное донесение о случае инфекционного заболевания и направляют

в территориальный центр гигиены и эпидемиологии, где они вводятся оператором в ИСЭД ЭВИ с использованием АРМ эпидемиолога.

Каждому пациенту с подозрением на ЭВНИ и/или контактному лицу автоматически присваивается уникальный идентификатор. Если пациент был зарегистрирован в ИСЭД ЭВИ ранее, то при регистрации нового случая ЭВНИ будет использован ранее сгенерированный идентификатор пациента. Регистрация и учет физических лиц и случаев заболевания ведется таким образом, чтобы обеспечить возможность регистрации каждого случая инфекционного заболевания у конкретного физического лица.

После ввода в ИСЭД ЭВНИ стандартного набора первичной информации о случае ЭВНИ эпидемиологом производится поиск эпидемиологических связей нового пациента или контактного лица с зарегистрированными ранее больным ЭВНИ и вирусовыделителями. Для определения веса (силы значимости) таких связей или вероятности заражения пациента или контактного НПЭВ используется аналитическая математическая модель ММ#1. Запуск процесса анализа происходит каждый раз, когда ИСЭД ЭВНИ пополняется информацией об эпидемиологически значимых событиях. Для каждого нового случая рассчитывают вес эпидемиологических связей с больными и вирусовыделителями из различных очагов групповой заболеваемости, образованных различными возбудителями. При этом используют данные, хранящиеся в БД#4 «Связи» и БД#7 «Графы». Временной период охвата эпидемиологически значимых событий для пациентов составляет продолжительность максимального инкубационного периода потенциального возбудителя ЭВНИ до момента появления первых симптомов заболевания. Для контактных лиц временной период охватывает два максимальных инкубационных периода потенциального возбудителя ЭВНИ до первых симптомов больного ЭВНИ, с которым у контактного лица имеется эпидемиологическая связь. Рассчитанное множество весов эпидемиологических связей $\{P_{\text{вид}0}(\text{ЭС}), P_{\text{вид}1}(\text{ЭС}), \dots, P_{\text{вид}i}(\text{ЭС})\}$ каждого случая подвергается дальнейшей программной обработке.

Вторым направлением эпидемиологического анализа является установление схожести клинической картины заболевания у пациента с симптомокомплексом и данными его лабораторного и инструментального обследования, с различной вероятностью указывающих на конкретного возбудителя. Учитывая схожесть клинических проявлений ЭВНИ, обусловленных различными видами, генотипами и субтипами НПЭВ пациенту присваиваются различные уровни вероятности инфицирования целым спектром НПЭВ. При этом учитывают в первую очередь возбудители ЭВНИ, циркулирующие на представленной территории. Определение вероятности инфицирования тем или иным возбудителем ЭВНИ рассчитывают, применяя аналитическую математическую модель ММ#2 с использованием стандартного набора первичной информации о случае и сведений из БД#3 «Симптомы». Анализ повторяется каждый раз, когда в ИСЭД ЭВНИ поступает новая информация о пациенте. В случае выявления обнуляющих вероятность ЭВНИ клинических симптомов, противоречащих диагнозу ЭВНИ, пациент меняет статус на неподтверждённый контактный (например, если при подозрении на энтеровирусный менингит в ликворе установлено высокое содержание лейкоцитов, что противоречит диагнозу серозный менингит). Он также может являться вирусовыделителем НПЭВ, находиться в инкубационном периоде или иметь сопутствующее инфекционное заболевание. Рассчитанное множество вероятностей инфицирования пациента или контактного различными возбудителями $\{P_{\text{вид}0}(C), P_{\text{вид}1}(C), \dots, P_{\text{вид}i}(C)\}$ направляется для дальнейшей обработки.

При наличии у пациента симптомов, характерных для ЭВНИ, но при отсутствии симптомов, противоречащих диагнозу ЭВНИ ($\sum(P_{\text{вид}i}(C)) > 0$) производится расчёт вероятностей наличия каждого из потенциально возможных возбудителей, путём перемножения критериев вероятности заражения (наличия эпидемиологической связи) на критерии вероятности соответствия симптомокомплекса пациента данному возбудителю. Из полученного множества вероятностей выбирается максимальная ($P(\text{ID}_n)$). В случае наличия

положительного результата выявления РНК НПЭВ методом ПЦР, данная вероятность увеличивается до единицы.

Информация о результатах выявления РНК НПЭВ методом ПЦР для каждого случая хранится в БД#5. При отрицательном результате, неподтверждённое контактное лицо исключается из анализа. В этом случае ИСЭД ЭВНИ передаёт уведомление об исключении случая из анализа на АРМ эпидемиолога.

При положительном результате выявления РНК НПЭВ методом ПЦР:

- статус неподтверждённого контактного меняется на статус вирусовыделителя;

- вероятность наличия неустановленного возбудителя ЭВНИ у пациента приравнивается единице ($P_{\text{вид0}}(ID_{\text{п}})=1$)

Для верификации диагноза ЭВНИ производится сравнение полученной вероятности наличия ЭВНИ со значимым уровнем вероятности ($P_{\text{знач}}$), который устанавливается научно-методическим центром по изучению ЭВНИ. Уровнем значимой вероятности является единый порог принятия диагноза ЭВНИ по клинико-эпидемиологическим характеристикам в эпидемических очагах в условиях эпидемического подъёма заболеваемости. После верификации диагноза случай приобретает статус «больной ЭВНИ» и добавляется в БД#2 Связи и БД#4 Риски.

В случае если рассчитанная по клинико-эпидемиологическим показателям вероятность заболевания ниже значимого уровня, происходит смена статуса случая с «пациента» на «неподтверждённый контактный». Дальнейшая обработка случая производится аналогично остальным контактными: при выявлении РНК НПЭВ в биологическом материале случаю присваивается статус «вирусовыделитель», при отрицательном результате выявления РНК случай выводится из анализа ($P(ID_{\text{нк}})=0$), на АРМ эпидемиолога направляется соответствующее уведомление.

При добавлении информации в БД#2, БД#3, БД#4, БД#5, сведения из указанных баз данных консолидируются в пул предикторов для обновления

одного из ранее зарегистрированных графов. Эпидемические очаги ЭВНИ представлены в ИСЭД НЭВИ в виде связанных взвешенных ациклических неориентированных графов $G(V,U,W |x)$, где V -множество связанных случаев (больные ЭВНИ, контактные лица, вирусовыделители), U -множество рёбер (эпидемиологических связей), W -множество весов, соответствующих вероятности заражения, x -НПЭВ с указанием вида, генотипа, субтипа. Графы формируются и хранятся в БД#7 «Графы».

Подбор граф для каждого случая производится аналитической математической моделью ММ#3, использующей указанный выше пул предикторов. Если граф подобрать не удалось, необходимо проведение генотипирования пробы для решения вопроса о принадлежности случая новому графу.

Главным условием формирования нового графа является выявление методом генотипирования нового (отсутствующего в текущем сезоне в других графах) возбудителя ЭВНИ или выявление методом генотипирования присутствующего в других графах возбудителя ЭВНИ, но не связанного с ними.

Прямым показанием к генотипированию положительной пробы на ЭВНИ является отсутствие связей больного или вирусовыделителя с действующими эпидемическими очагами.

6.5 Аналитические математические модели информационной системы

Аналитические математические модели при сопоставлении данных используют принцип логистической регрессии, реализованной на основе многослойной нейронной сети, прошедшей обучение на основании накопленных в ИСЭД ЭВНИ структурированных и верифицированных сведений.

В качестве предикторов в ММ#1 используют эпидемиологически значимые события, в ММ#2 – клинические признаки заболевания (симптомы, результаты

лабораторные и инструментальных исследований), выявленные у пациента и хранящиеся в БД#3. ММ#3 использует в качестве предикторов показатели рассчитанные моделями ММ#1 и ММ#2, а также информацию из основных баз данных (БД#2, БД#3, БД#4, БД#5), в том числе:

- данные об эпидемиологических связях больных, неподтверждённых контактных и вирусовыделителей, потенциально вовлечённых в прогнозируемый эпидемический очаг ($ID_б[ЭС], ID_{нк}[ЭС], ID_{вв}[ЭС]$);

- риски заражения различными возбудителями ЭВНИ ($ID_б\{P_{вид0}(ЭС), P_{вид1}(ЭС), \dots, P_{видi}(ЭС)\}, ID_{нк}\{P_{вид0}(ЭС), P_{вид1}(ЭС), \dots, P_{видi}(ЭС)\}, ID_{вв}\{P_{вид0}(ЭС), P_{вид1}(ЭС), \dots, P_{видi}(ЭС)\}$)

- множество вероятностей соответствия симптомов больных ЭВНИ потенциально вовлечённых в прогнозируемый эпидемический очаг ($ID_б\{P_{вид0}(С), P_{вид1}(С), \dots, P_{видi}(С)\}$)

- положительные данные результатов выявления РНК НПЭВ методом ПЦР ($ID_б(ПЦР), ID_{вв}(ПЦР)$).

Большинство значений предикторов задаются в бинарной форме, свидетельствующей о наличии или отсутствии признака.

Регрессионная модель представляет собой систему уравнений для переменных-предикторов с коэффициентами и функциями активации, представленными в виде многомерной матрицы. Количество слоев нейронной сети на этапе внедрения модели в опытную эксплуатацию может варьировать от 3 до 5. В качестве функций активации используют сигмоиду и полулинейный элемент [209].

Обучение регрессионной модели проводится по мере накопления данных в ИСЭД ЭВНИ. Поиск оптимальных значений коэффициентов производится с использованием библиотеки машинного обучения TensorFlow (<https://www.tensorflow.org/>), с применением алгоритма стохастической оптимизации ADAM [164].

6.6 Результаты эпидемиологической диагностики с использованием информационной системы

В процессе работы ИСЭД ЭВНИ определяют границы эпидемических очагов на местности, благодаря наличию географических координат для каждого зарегистрированного эпидемиологически значимого события. Границы очага динамически изменяются при поступлении новой информации. Учитывают реальное количество лиц, вовлечённых в эпидемический процесс на протяжении всего периода действия очага и циркуляции возбудителя.

Спорадические случаи, не связанные с очагами групповой заболеваемости, также будут определяться по объективным показателям. В ИСЭД ЭВНИ такими случаями считают больных и вирусовыделителей, не включённых ни в один граф с числом вершин (лиц вовлечённых в эпидемический очаг) больше или равных 3.

В пределах эпидемического очага отмечают элементы социальной инфраструктуры об эпидемиологически значимых событиях, зарегистрированных в ИСЭД ЭВНИ при сборе эпидемиологического анамнеза лиц, вовлечённых в эпидемический процесс. Ранжирование долей эпидемиологических связей с максимальной вероятностью реализации передачи возбудителя, приходящихся на отдельные объекты социальной инфраструктуры, формирует рейтинг критичности таких объектов для распространения инфекции. Данная информация позволяет объективизировать принятие управленческих решений в отношении объектов социальной инфраструктуры, провести противоэпидемические мероприятия адресно, с минимальными экономическими потерями.

Автоматизированный анализ клинико-эпидемиологических данных позволит дать единую объективную оценку вероятности наличия у пациента инфекционного заболевания, вызванного НПЭВ, в отсутствие лабораторного подтверждения. Оперативная оценка выявленного случая на предмет наличия НПЭВ, учитывающая множество факторов, немислима при обработке в ручном режиме. Между тем, возможность получения таких сведений на самом раннем

этапе, ещё до того как появятся данные ПЦР-диагностики, крайне важна для определения ориентировочного числа лиц, подвергшихся риску заражения, и выполнения необходимого набора противоэпидемических мероприятий.

Мониторинг случаев, связанных с каждым эпидемическим очагом, позволит оценить качество и своевременность проводимых противоэпидемических и профилактических мероприятий, оптимизирует информирование руководства об эпидемиологической обстановке по ЭВНИ в любом масштабе от микрорайона до субъекта Российской Федерации с наглядным выводом данных на карту или в виде интерактивной инфографики. Обобщённые результаты также могут быть представлены в виде привычных для анализа таблиц.

Персонализированный учёт больных в ИСЭД ЭВНИ позволит в автоматическом режиме сформировать все существующие официальные формы статистической отчётности, в части заполнения полей, касающихся ЭВНИ и её клинических форм.

Протоколы хранения информации о заболевших лицах в соответствии со стандартом HL7 обеспечат возможность интеграции данных с региональными и федеральными государственными медицинскими информационными системами.

Благодаря гибким механизмам непрерывного совершенствования аналитических математических модулей, появится возможность увеличения количества входных данных эпидемиологического анамнеза, например импорт данных трекинга мобильных устройств пациента (контактного, вирусовыделителя).

Данная информационная система после не критических доработок, ориентированных на специфические особенности процесса лабораторной диагностики, может быть использована для эпидемиологической диагностики других актуальных инфекций, способных вызывать эпидемии и пандемии в Российской Федерации.

На разработанную ИСЭД ЭВИ получено свидетельство на промышленный образец (рег. № 2020502830 от 18.06.2020), схема информационной системы представлена в приложении №1.

ГЛАВА 7 СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДСТВ И СПОСОБОВ ПРОФИЛАКТИКИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ

В силу отсутствия средств для специфической профилактики ЭВНИ, определяющую роль в предотвращении распространения этой инфекции на современном этапе, как показывает практика, отводят изоляционно-ограничительным мерам и неспецифической профилактике. Комплекс санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий по данному направлению нацелен на источник возбудителя инфекции (своевременная и эффективная диагностика и этиотропная терапия), механизм и факторы передачи (максимальное разобщение больных и здоровых во времени и пространстве, комплекс дезинфекционных и стерилизационных мероприятий) и восприимчивый организм (общеукрепляющие мероприятия, барьерные средства защиты, препараты сезонной и экстренной химиопрофилактики).

Большое место в перечисленном комплексе мероприятий по причине отсутствия специфических этиотропных средств, воздействующих на источник возбудителя инфекции (первое звено эпидемического процесса), имеет разработка высокоэффективных средств и способов дезинфекции и антисептики (второе звено эпидемического процесса) и препаратов из органических и химических соединений для элиминационной терапии (третье звено эпидемического процесса).

7.1 Новые растительные субстанции в качестве кандидатов для разработки кожных антисептиков

Известно, что все кожные антисептики, разрешенные к применению на территории РФ, в настоящее время представлены спиртами: этиловым,

пропиловым и изопропиловым. Эти спирты могут входить в состав антисептика как отдельные соединения, так вместе с другими вспомогательными компонентами, обеспечивающими более благоприятные физико-химические (растворимость, стабильность и др.) и потребительские (моющее, чистящее, дезодорирующее и др.) свойства товара. Вместе с тем, широкое использование химических соединений бытовой химии, негативное воздействие на организм человека агрессивных факторов внешней среды, ставит перед разработчиками задачу не только исключить их негативное влияние на организм человека в целом, но и обеспечить берегающее действие на кожу рук (интенсивное питание, повышение регенеративных свойств и пр.).

Цель представленного раздела работы заключалась в подборе веществ из растительного сырья отечественного производства с дезинфицирующим (антисептическим) эффектом в отношении энтеровирусов. В связи с этим, были определены основные требования, предъявляемые к таким растительным кандидатам:

- элементы растений (ствол, листья, корень, соцветия, плоды, семена) должны содержать компоненты, обладающие сильным антимикробным свойством;

- растения должны произрастать на территории Российской Федерации;

- должно быть налажено промышленное производство различных видов экстрактов из них.

Этим критериям могли соответствовать 17 выбранных нами претендентов:

1. Чистотел большой (*Chelidonium majus*);
2. Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*);
3. Подорожник (*Plantago*);
4. Черёда (*Bidens*);
5. Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*);
6. Календула лекарственная (*Calendula officinalis*);
7. Калина Красная (*Viburnum opulus*);
8. Эвкалипт (*Eucalyptus*);

9. Ромашка (*Matricaria*);
10. Чабрец (*Thymus*);
11. Розмарин лекарственный (*Rosmarinus officinalis*);
12. Хвощ полевой (*Equisetum arvense*);
13. Пихта (*Abies*);
14. Ель (*Picea*);
15. Можжевельник (*Juniperus*);
16. Сосна (*Pinus*);
17. Лаванда (*Lavandula*).

Чистотел большой (*Chelidonium majus*), во всех частях растения содержатся алкалоиды, количество которых в траве может достигать 2 %, а в корнях - 4 %.

Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*), содержит до 0,8 % эфирного масла, в состав его входят моно (-туйол, -цинеол), камфора и сесквитерпеноиды. Из листьев и соцветий кроме эфирного масла выделены 12 сесквитерпеновых лактонов, найдены также флавоноиды, полиацетилены, стерины, тритерпеновые спирты.

Подорожник (*Plantago*), в свежих листьях найдены флавоноиды, маннит, сорбит, лимонная и олеаноловая кислоты.

Черёда (*Bidens*), содержит эфирное масло, флавоноиды, производные коричной кислоты, дубильные вещества с большим содержанием фракции полифенолов, растение способно накапливать марганец.

Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*), листья содержат эфирное масло (в состав которого входят цинеол), алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, урсоловую, олеановую и хлорогеновую кислоты. Из семян выделено жирное масло, содержащее глицерид линолевой кислоты, в корнях найдены хиноны, ройлеаноны.

Калина красная (*Viburnum opulus*), кора содержит эфирное масло, органические кислоты, высшие жирные кислоты. В плодах имеются углеводы (сахароза, фруктоза, глюкоза), полисахариды, органические кислоты,

тритерпеноиды (олеоноловая и хедерагеновая кислоты), каротин, высшие жирные кислоты.

Календула лекарственная (Calendula officinalis), в цветочных корзинках содержатся каротиноиды и флавоноиды, в корнях календулы присутствуют полисахариды, полифенолы, смолы, органические кислоты, в семенах лауриновая и пальмитиновая кислота, алкалоиды, в корнях инулин.

Эвкалипт (Eucalyptus), листья содержат эфирное масло, флавоноиды и дубильные вещества.

Ромашка (Matricaria), цветочные корзинки содержат эфирное масло, присутствуют также флавоноиды.

Чабрец (Thymus), содержит до 1 % эфирного масла, в траве обнаружены дубильные вещества, камедь, тритерпеновые соединения, большое количество минеральных солей.

Розмарин лекарственный (Rosmarinus officinalis), в сухих корнях содержится пентозаны и гексозаны, корни содержат бетаин, каротин, фитостерины, минеральные вещества, минеральные соли.

Хвощ полевой (Equisetum arvense) содержит алкалоиды, сапонин эквизетонин, флавоноиды, эфирное масло.

Пихта (Abies), концы ветвей содержат до 3 % эфирного масла, до 0,32 % аскорбиновой кислоты, флавоноиды (рутин, кверцетин), хлорофилл, каротиноиды, витамин Е, стерины и фитонциды.

Ель (Picea), содержит эфирные масла, витамин С, дубильные вещества, смолы, минеральные соли, фитонциды.

Можжевельник (Juniperus), содержание эфирного масла в шишках и ягодах составляет 0,5-2 %, стеблях - 0,25 %, хвое - 0,18 %, коре - 0,5 %, в шишкоягодах содержатся органические кислоты (яблочная, муравьиная, уксусная), кора содержит дубильные вещества, хвоя аскорбиновую кислоту.

Сосна (Pinus), ветви и почки содержат эфирное масло, найдены аскорбиновая кислота, каротин, витамины группы В, пантотеновая кислота, алкалоиды.

Лаванда (Lavandula), все части растения содержат эфирное масло, главной составной частью его являются сложные эфиры спирта L-линалоола и кислот (уксусной, масляной, валериановой и капроновой), в цветках содержатся дубильные вещества и смолы, урсоловая кислота, кумарин, герниарин.

Более подробное ботаническое описание, географическое распространение и химический состав растительных кандидатов представлены в Приложении №2, виды выбранных из них экстрактов для определения антимикробной активности в Таблице 45.

Таблица 45

Виды экстрактов растительных веществ отечественного производства для исследования антимикробной активности

№ п/п	Растения	Водно-глицериновые экстракты	Пропилен-гликолевые экстракты
1.	Чистотел большой (<i>Chelidonium majus</i>)	стебли, листья, соцветия	стебли, листья, соцветия
2.	Тысячелистник обыкновенный (<i>Achillea millefolium</i>)	стебли, листья, соцветия	стебли, листья, соцветия
3.	Подорожник (<i>Plantago</i>)	листья	листья, семена
4.	Черёда (<i>Bidens</i>)	листья и соцветия	листья и соцветия
5.	Шалфей лекарственный (<i>Salvia officinalis</i>)	листья	листья
6.	Календула лекарственная (<i>Calendula officinalis</i>)	соцветия	соцветия
7.	Калина Красная (<i>Viburnum opulus</i>)	плоды	
8.	Эвкалипт (<i>Eucalyptus</i>)	листья	
9.	Ромашка (<i>Matricaria</i>)	соцветия	соцветия
10.	Чабрец (<i>Thymus</i>)	листья	
11.	Розмарин лекарственный (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	листья	
12.	Хвощ полевой (<i>Equisetum arvense</i>)	трава	
13.	Пихта (<i>Abies</i>)	хвоя	
14.	Ель (<i>Picea</i>)	хвоя	
15.	Можжевельник (<i>Juniperus</i>)		хвоя
16.	Сосна (<i>Pinus</i>)		почки
17.	Лаванда (<i>Lavandula</i>)		соцветия

Проведено исследование готовых к применению 24-х рабочих 3 % водно-глицериновых или пропилен-гликолевых экстрактов, представленных выше субстанций. В качестве тест-объектов использовали стандартные гладкие поверхности, размером 10x10 см (стекло, линолеум, плитка), на которые в первом опытным эксперименте наносили тест-штаммы *E.Coli (1257)*, во втором после проверки бактерицидных свойств и выбора наиболее подходящих кандидатов – вакцинный штамм полиовируса *Sabin (LSc-2ab)*, после чего перечисленные выше поверхности (тест-объекты) обрабатывали испытуемыми средствами. Для контроля вместо тест-штаммов *E.Coli (1257)* и *Sabin (LSc-2ab)* на аналогичные поверхности наносили стерильную воду.

Оценку результатов проводили через 15 и 30 мин. и выражали в процентном соотношении, где 0 % - отсутствие эффекта (рост тест-штамма на поверхности тест-объекта), 100 % - высокая эффективность (полное отсутствие роста тест-штамма на поверхности тест-объекта). Условия проведения испытаний соответствовали требованиям Р4.2.2643-10. Критерием эффективности обеззараживания поверхностей считали не менее 99,99 % гибели тест-микроорганизмов при указанном времени экспозиции.

В ходе проведенных исследований с тест-штаммом *E.Coli (1257)* в группе водно-глицериновых экстрактов (14 образцов) лишь у двух, наблюдался высокий бактерицидный эффект, это 3 % экстракт Пихты (100 %) и 3 % экстракт Ели (100 %) (Таблица 46). Минимальной активностью характеризовались Календула (10 %), Калина (10 % - 30 %) и Эвкалипт (20 % - 30 %). Полное отсутствие таковой отмечали у Чистотела, Тысячелистника и Подорожника.

В группе пропилен-гликолевых экстрактов (10 образцов) ни одно тестируемое растение не соответствовало обозначенным выше критериям. Уровень их антибактериальной активности не превысил 75 % при необходимом показателе 99,99 %. Наиболее высокое значение установлено у Можжевельника (75 %) и Сосны (70 %), наиболее низкое – у Чистотела (30 %).

Антибактериальная активность экстрактов растительных веществ природного происхождения - кандидатов к использованию в качестве антисептических средств (Тест-штамм E.Coli (1257))

Номер образца	Группа	Растение, вид экстракта	Эффективность (%)					
			0 % - отсутствие активности 100 % - высокая активность (время экспозиции)					
			стекло		линолеум		плитка	
15 мин	30 мин	15 мин	30 мин	15 мин	30 мин			
Э-3-1	Водно-глицериновые экстракты	Чистотел (стебли, листья, соцветия)	0	0	0	0	0	0
Э-3-2		Тысячелистник (стебли, листья, соцветия)	0	0	0	0	0	0
Э-3-3		Подорожник (листья)	0	0	0	0	0	0
Э-3-4		Черёда (листья и соцветия)	50	60	50	60	50	60
Э-3-5		Шалфей (листья)	50	60	50	60	50	60
Э-3-6		Календула(соцветия)	10	10	10	10	10	10
Э-3-7		Калина (плоды)	10	30	10	30	10	30
Э-3-8		Эвкалипт (листья)	20	30	20	30	20	30
Э-3-9		Ромашка (соцветия)	50	50	50	50	50	50
Э-3-10		Чабрец (листья)	50	50	50	50	50	50
Э-3-11		Розмарин (листья)	60	60	60	60	60	60
Э-3-12		Хвоц (травя)	50	60	50	60	50	60
Э-3-13		Пихта (хвоя)	100	100	100	100	100	100
Э-3-14		Ель (хвоя)	100	100	100	100	100	100
Э-3-15	Пропиленгликолевые экстракты	Можжевельник (хвоя)	75	75	75	75	75	75
Э-3-16		Сосна (почки)	70	70	70	70	70	70
Э-3-17		Лаванда (соцветия)	50	52	50	52	50	52
Э-3-18		Шалфей (листья)	45	50	45	50	45	50
Э-3-19		Черёда (листья и соцветия)	40	40	40	40	40	40
Э-3-20		Чистотел (стебли, листья, соцветия)	30	30	30	30	30	30
Э-3-21		Подорожник (листья, семена)	40	50	40	50	40	50
Э-3-22		Тысячелистник (стебли, листья, соцветия)	50	50	50	50	50	50
Э-3-23		Календула (соцветия)	50	65	50	65	50	65
Э-3-24		Ромашка (соцветия)	60	60	60	60	60	60

Таким образом, из 24 претендентов были отобраны только две субстанции - 3 % водно-глицериновый экстракт Пихты (Abies) и 3 % водно-глицериновый экстракт Ели (Picea).

Результаты оценки вирулицидной активности этих двух экстрактов представлены в таблице 47

Таблица 47

Вирулицидная активность экстрактов растительных веществ природного происхождения – кандидатов к использованию в качестве антисептических средств (Тест-штамм Sabin (LSc-2ab))

Номер образца	Группа	Растение, вид экстракта	Эффективность (%)					
			0 % - отсутствие активности 100 % - высокая активность (время экспозиции)					
			стекло		линолеум		плитка	
15 мин	30 мин	15 мин	30 мин	15 мин	30 мин			
Э-3-13	Водно-глицериновые экстракты	Пихта (хвоя)	100	100	100	100	100	100
Э-3-14		Ель (хвоя)	100	100	100	100	100	100

При времени экспозиции 15 - 30 минут оба тестируемых экстракта показали вирулицидную активность - 100 %. Это позволило сделать вывод об их высоком ингибирующем эффекте не только на бактерии, но и на вирусы и рекомендовать эти две субстанции в качестве кандидатов для разработки противовирусных антисептических средств.

7.2 Расширение арсенала способов дезинфекции для обеззараживания воздуховодов системы вентиляции

В связи с интенсивным развитием высоких медицинских технологий и использованием современного инновационного оборудования наряду с традиционными способами химической дезинфекции (протирание и орошение поверхностей объектов внешней среды), получила широкое распространение аэрозольная дезинфекция [2, 71].

В связи с этим, повышение эффективности и безопасности аэрозольной обработки систем вентиляции является актуальной эпидемиологической и технологической задачей.

Согласно действующим на территории РФ нормативным документам [1, 23, 70] и инструкциям по применению дезинфицирующих средств, для аэрозольной дезинфекции используют препараты из многих химических групп соединений. Для каждого из них предусмотрен отдельный режим (Таблица 48).

Таблица 48

Перечень дезинфицирующих препаратов, используемых для проведения аэрозольной дезинфекции и режимы их применения

Наименование препарата	Активное вещество	Форма препарата	Инструкция	Режим применения
Део-хлор люкс	Натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты	Таблетки	№ 18/13 от 2013 года	Использование генераторов мелкодисперсных аэрозолей с размером частиц от 1 мкм, 10 мл/м ³ . Норма расхода, согласно инструкции к аппарату
Део-бактер плюс	Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) 18 % Изопропанол 5,0 %	Раствор	№ 34/17 от 2017 года	Аэрозольное проведение аэрозольными генераторами, норма расхода согласно инструкции по применению генератора
Бетадез	ЧАС 12 %	Раствор	№ 3/11 от 2011 года	Норма расхода 10 мл/м ³ . Соответствует режиму при орошении и погружении. Используются соответствующие технические устройства
Дезаргент	Перекись водорода 6 %	Раствор	№ 20/12 от 2013 года	Используются распылители типа «Ультраспрейер».
Наколиз	Перекись водорода 6 %	Раствор		Используют аппарат «Нокоспрей»
«Картридж GLOSAR*400»	Перекись водорода 5-6 %	Раствор	№ 1/2015 от 2015 года	Автоматическая система GLOSAIR™ 400*

Окончание Таблицы 48

Наименование препарата	Активное вещество	Форма препарата	Инструкция	Режим применения
Дезинфицирующее средство «Аэрон»	Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (0,16 %) и дидецилдиметил-аммоний хлорид (0,03 %)	Аэрозольные баллоны 75-750 мл	№ 43 от 2012 года	Одного баллона объемом 1000 мл достаточно для обработки воздуха объемом 750 м ³ , баллона объемом 50 мл - 37,5 м ³
ОПТИМАКС проф	Амин 5,0 %	Раствор	№ Д-19/09 от 2009 года	Дезинфекция воздуховодов вентиляционных систем проводится методом орошения (мелкодисперсного распыления)

В инструкциях определены режимы аэрозольного обеззараживания воздуха самих помещений, но не внутренних поверхностей воздуховодов системы вентиляции.

Для получения аэрозолей используют оборудование различной степени сложности – от гидропультов до аэрозольных генераторов с дистанционным управлением. Размеры капель генерируемого аэрозоля при этом, могут существенно варьировать: от высокодисперсных размерами от 0,5 до 5 мкм до грубодисперсных - более 100 мкм (Таблица 49).

Таблица 49

Виды аэрозольных генераторов, используемых для дезинфекции помещений

Наименование генератора	Страна производитель	Используемые дезинфицирующие препараты	Размер аэрозоля, мкм	Расход, мл на м ³	Наличие выносного сопла (форсунки)
Аппарат для аэрозольной дезинфекции Nocospray*	Франция	Ноколиз в картридже (раствор 6 % H ₂ O ₂ , AgNO ₃)	5	1	-

Окончание Таблицы 49

Наименование генератора	Страна производитель	Используемые дезинфицирующие препараты	Размер аэрозоля, мкм	Расход, мл на м ³	Наличие выносного сопла (форсунки)
Автоматическая система GLOSAIR™ 400**	США, Франция	Р-р 5 % H ₂ O ₂ , Ag, H ₃ PO ₄ в картридже	8-12	6	-
Аэрозольный распылитель "Ультраспрейер Р-60М"***	Россия	Дезаргент готовый раствор (р-р 6 % H ₂ O ₂ , Ag)	1-5	3	-
Мобильный гигиенический центр (МГЦ®)****	Россия	Все препараты с аэрозольным режимом	3,5-10 10-20 20-50 50-100	не установлен	-
Центробежный аэрозольный генератор ЦАГ-Джет-2	Россия	Все препараты с аэрозольным режимом	2-30	не установлен	-
Аэрозольный генератор PRO-ULV 1035	США	Все препараты с аэрозольным режимом	0,5-13,5	не установлен	40 см
Raster ULV Fogger	Индия	Все препараты с аэрозольным режимом	5-10	10	-
Генератор холодного тумана Longray 1680	Китай	Все препараты с аэрозольным режимом	5-30	не установлен	-
Генератор холодного тумана OR-DP1	Китай	Все препараты с аэрозольным режимом	0-20	не установлен	-
Генератор холодного тумана Storm	Китай	Все препараты с аэрозольным режимом	5-50	не установлен	-
Генератор холодного тумана ULV Tornado 10	Южная Корея	Все препараты с аэрозольным режимом	5-40	не установлен	-
Генератор холодного тумана Airofog U-260	Китай	Все препараты с аэрозольным режимом	5-30	не установлен	20 см
Генератор холодного тумана Pulsfog TURBO ULV	Германия	Все препараты с аэрозольным режимом	0,5-50	2	50 см

Зарегистрированы как медицинское оборудование:

* - РЗН 2016/3916 от 01.04.2016

** - ФСЗ 2011/09052 от 18.06.2014

*** - РЗН 2014/1020 от 09.09.2014

**** - РЗН 2016/3908 от 15.11.2016

Из перечисленного выше следует, что в условиях интенсивного внедрения в работу аэрозольных генераторов и большого разнообразия дезинфицирующих средств, возникает сложная задача их выбора с целью получения эффективного результата.

В связи с этим, был испытан комплект оборудования генератора аэрозоля на стенде системы вентиляции, оборудованной технологическими отверстиями и плотно прилегающими к ним инспекционными люками. В комплект оборудования генератора аэрозоля производительностью 30 мл в минуту входили:

- компрессор на 6 атм.,
- гибкий спиральный воздуховод длиной 5 м,
- малярный пистолет с форсункой, генерирующий аэрозоль размером 5-25 мкм.

В качестве дезинфицирующего средства использовали препарат «Дезаргент» (свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.01.002.E002883.11.10 от 22.11.2010).

Испытания проводили, согласно технологии, изложенной в описании реферата патента RU 2625748 «Способ дезинфекции систем вентиляции». Нагнетание аэрозоля осуществляли через технологические отверстия в течение времени, равного количеству дезинфицирующего раствора, необходимого для данной площади поверхности, разделенного на 30 (производительность форсунки мл/мин.). Количество раствора дезинфицирующего средства для изготовления аэрозоля определяли путем умножения площади воздуховода в кв. м на 25 мл раствора дезинфектанта. Экспозицию распыленного аэрозоля вели при закрытых технологических отверстиях в течение времени, необходимого для обеззараживания. В среднем, время экспозиции составляло не более 1 часа, после чего при закрытых технологических отверстиях через воздуховод прогоняли воздух для освобождения от оставшихся мелкодисперсных взвешенных частиц аэрозоля внутренней полости воздуховодов.

Отличительными особенностями представленного способа явилось то, что:

- для диспергирования использовали воздух, подаваемый от компрессора на 6 атм.;
- подачу воздуха к пистолету с форсункой осуществляли через гибкий спиральный воздуховод (длиной 5 м);
- аэрозоль дезинфицирующего средства получали посредством форсунки, сконструированной под дисперсность 5-25 мкм.

Использование представленного комплекта оборудования позволило получить новый технический результат, который выразился в минимальных объемах дезинфицирующего средства (25 мл/м^2), значительном облегчении труда дезинфекторов (к месту дезинфекции доставлялся готовый аэрозоль, а не емкость с дезинфицирующим раствором) и улучшении качества дезинфекции за счет равномерного распределения дезинфицирующего средства по внутренней поверхности воздуховода системы вентиляции.

Испытания разработанного способа дезинфекции были проведены на стенде, в состав которого входили два соединенных воздуховода системы вентиляции, выполненных из оцинкованной стали (Рисунок 57)



Рисунок 57 Комплект оборудования для аэрозольной дезинфекции (компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод, малярный пистолет, генерирующий аэрозоль 5-25 мкм)

Исследование бактерицидной и вирулицидной эффективности дезинфекции, представленным выше способом, осуществляли в соответствии с «Р 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство» (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010), п. 5.1., п.п. 5.1.3.5. В качестве тест-культуры использовали тест-штамм *Staphylococcus aureus* (906) и полиовирус 1 типа Sabin - LSc-2a.

В два технологических (инспекционных) отверстия поочередно нагнетали среднedisперсный аэрозоль размером 5-25 мк, который был получен из 4,0 % раствора дезинфицирующего средства марки «Дезаргент» с использованием форсунки в режиме 30 мл в минуту. Время экспозиции составило 1 час с момента завершения нагнетания аэрозоля и закрытия последнего технологического отверстия. Согласно инструкции № 20/12 по применению дезинфицирующего средства «Дезаргент» при бактериальных и вирусных инфекциях воздуховоды дезинфицировали 0,5 -1,0 % растворами с расходом 100 мл на кв. м. При испытании расход дезинфицирующего средства составил 25 мл на 1 кв.м., т.е. концентрация раствора должна была быть выше в 4 раза – 2,0-4,0 %.

Отбор контрольных смывов из мест нанесения культур бактерий и вирусов проведены до обработки (0 мин) и после обработки, через 1 час (60 мин) в пяти одинаковых повторах (Таблица 50) в соответствии с МУК 4.2.2942-11. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях. Методические указания» (утв. Роспотребнадзором 15.07.2011).

В результате проведенного эксперимента тест-штаммы *Staphylococcus aureus* и Sabin - LSc-2ab до проведения дезинфекционной обработки в контрольных смывах (0 мин экспозиции) присутствовали, после проведения обработки (60 мин экспозиции) – отсутствовали.

Микробиологическая эффективность нового способа аэрозольной дезинфекции с использованием компрессора на 6 атм., гибкого спирального воздуховода и малярного пистолета, генерирующего аэрозоль размером 5-25 мкм

Тест-культура	Номер опыта	Время от начала эксперимента	Результат
Золотистый стафилококк <i>Staphylococcus aureus</i> (960)	1	0 мин	<i>Staphylococcus aureus</i>
		60 мин	отрицательный
	2	0 мин	<i>Staphylococcus aureus</i>
		60 мин	отрицательный
	3	0 мин	<i>Staphylococcus aureus</i>
		60 мин	отрицательный
	4	0 мин	<i>Staphylococcus aureus</i>
		60 мин	отрицательный
	5	0 мин	<i>Staphylococcus aureus</i>
		60 мин	отрицательный
Полиовирус вакцинный штамм <i>Sabin (LSc-2ab)</i>	1	0 мин	Sabin (LSc-2ab)
		60 мин	отрицательный
	2	0 мин	Sabin (LSc-2ab)
		60 мин	отрицательный
	3	0 мин	Sabin (LSc-2ab)
		60 мин	отрицательный
	4	0 мин	Sabin (LSc-2ab)
		60 мин	отрицательный
	5	0 мин	Sabin (LSc-2ab)
		60 мин	отрицательный

Таким образом, эксплуатационные испытания нового способа аэрозольной дезинфекции с использованием комплекта оборудования генератора аэрозоля (компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод длиной 5 м и малярный пистолет с форсункой, генерирующий аэрозоль размером 5-25 мкм) производительностью 30 мл в мин подтвердили его высокую эффективность и снижение цены относительно других приборов-аналогов (Таблица 51).

При данном способе проведения дезинфекционной обработки себестоимость одного исследования (1 час аэрозолирования) составила 5,00 руб. и была ниже других способов в 1,42 – 130,0 раз.

Стоимостные характеристики аэрозольных генераторов и аэрозольной дезинфекции

Наименование генератора	Страна производитель	Стоимость прибора, руб.	Себестоимость одного часа аэрозолирования, руб.
Автоматическая система GLOSAIR™ 400*	США, Франция	1 560 000	650,00
Мобильный гигиенический центр (МГЦ®)*	Россия	1 300 000	541,70
Аппарат для аэрозольной дезинфекции Nocospray*	Франция	285 000	118,75
Аэрозольный распылитель "Ультраспрейер Р-60М"*	Россия	150 000	62,50
Аэрозольный генератор PRO-ULV 1035	США	80 000	33,30
Генератор холодного тумана Pulsfog TURBO ULV	Германия	60 000	25,00
Raster ULV Fogger	Индия	60 000	25,00
Центробежный аэрозольный генератор ЦАГ-Джет-2	Россия	58 000	24,20
Генератор холодного тумана ULV Tornado 10	Южная Корея	36 700	15,30
Генератор холодного тумана Airofog U-260	Китай	28 500	11,90
Генератор холодного тумана Storm	Китай	18 500	7,70
Генератор холодного тумана OR-DP1	Китай	17 000	7,10
Генератор холодного тумана Longray 1680	Китай	17 000	7,10
Генератор аэрозоля (компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод длиной 5 м и малярного пистолет с форсункой, генерирующий аэрозоль размером 5-25 мкм) производительностью 30 мл в мин	Россия	12 000	5,00

*- приборы зарегистрированы, как медицинское оборудование.

На представленный способ получен патент на изобретение «Аэрозольный способ дезинфекции систем вентиляции» RUS 2731265 от 17.12.2019.

7.3 Влияние некоторых органических и химических соединений на патогенный потенциал возбудителей энтеровирусной (неполио) инфекции

Одним из важных направлений неспецифической профилактики является элиминационная терапия, направленная на снижение вирусных и бактериальных

агентов в ее «входных воротах». Ирригационная терапия усиливает мукоцилиарную функцию эпителия, минимизирует возможность адгезии возбудителей к слизистым оболочкам респираторного и желудочно-кишечного тракта.

Изучено влияние некоторых органических и химических соединений на патогенный потенциал возбудителей энтеровирусных инфекций. В качестве экспериментальной модели использованы два аналогичных клона ЕСНО-11 (гемагглютинирующий вариант с рецептором daf^+ и негемагглютинирующий вариант daf^-), перевиваемая культура клеток RD (клетки рабдомиосаркомы человека) из коллекции микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора и химические соединения роданин и нистатин.

Роданин (2-тио-4-оксотиазолидин, $C_3H_3NOS_2$) - гетероциклическое органическое соединение. Ряд его производных дают фенилэтилизотиоцианат при метаболизме в организме человека и обладают профилактической противоопухолевой активностью. Помимо профилактических свойств, производные роданина обладают дополнительными качествами, благодаря содержанию в них остатка тиогликолевой кислоты, которая связывает высокотоксичные водорастворимые соли тяжелых металлов. Данное качество может быть использовано для профилактики воздействия неблагоприятных факторов внешней среды для людей, проживающих в экологически загрязненных районах, а также для профилактики и нейтрализации воздействия вредных веществ в промышленных условиях, прежде всего, в металлургической промышленности (патент на изобретение RU (11) 2 521 390(13)). Имеются данные об использовании производных роданина в качестве гипогликемических агентов и средств для лечения болезни Альцгеймера (патент на изобретение RU 2131251). Для ряда соединений роданина экспериментально установлена активность *in vitro* против вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1)pdm2009 [29].

В ряде работ детально изучено избирательное ингибирующее действие роданина на процесс депротенинизации геномной РНК эховирусов 7 и 12 серотипов [124, 276]. С помощью радиоактивно меченного роданина установлена

связь с вирионом ЕСНО-12, причем это взаимодействие не нарушалось у роданин-резистентных и роданин-зависимых мутантов, на что указывала их повышенная устойчивость к термоинактивации в присутствии роданина [166]. Сохранение способности к взаимодействию с роданином у мутантных эховирусов позволило предположить, что выявленные мутации не затрагивали сайт связывания вириона с роданином, но усиливали гибкость капсидных белков, облегчая депротеинизацию вирусной РНК. Дальнейшие исследования противовирусной активности роданина проводились с его арилметиленовым производным «LJ001», обладающим широким спектром противовирусной активности в отношении вирусов, имеющих суперкапсид [281], но не действовавшим против безоболочечных вирусов, а также с производными роданина, проходившими испытания в качестве ингибиторов полимеразы NS5B вируса гепатита С [264].

Цель представленного раздела работы заключалась в изучении влияния роданина на форму графиков инфекционной активности двух селекционированных ранее клонов ЕСНО-11 (клон 431-1с рецептором DAF1 (CD55) для гемагглютинирующего варианта и клон 431-6 с не идентифицированным клеточным рецептором для негемагглютинирующего варианта) в одиночных циклах репродукции. Пулы клонов 431-1 и 431-6, использовавшихся для инокуляции культур клеток, являлись урожаем первого пассажа вирусов из материала бляшек. Их идентичность была проверена методом прямого секвенирования структурной части генома, а инфекционная активность определена методом бляшек под агаровым покрытием [49, 217].

В ходе исследований выявлены достоверные отличия между циклами репродукции гемагглютинирующего и негемагглютинирующего клонов вируса ЕСНО-11 по разности величин инфекционной активности в присутствии роданина во временном интервале с 30 по 210 мин. (Таблица 52)

Инфекционная активность клонов вируса ЕСНО-11 (431-1 и 431-6)
в эксперименте с одиночным циклом репродукции без роданина и в присутствии
роданина

Клон	№ пробы (время в минутах ¹)	Инфекционная активность $-\log_{10}(\text{ТЦД}_{50}) / 0,2 \text{ мл}$		
		без роданина $X \pm s$ ²	с роданином $X \pm s$ ²	разность D ³
431-1	1 (0)	6,1±0,24	6,5±0,23	+0,4
	2 (30)	5,2±0,23	6,5±0,15	+1,2*
	3 (60)	4,7±0,24	6,2±0,21	+1,5*
	4 (120)	4,4±0,17	6,9±0,15	+2,5*
	5 (180)	5,9±0,21	6,9±0,1	+1,0*
	6 (210)	6,1±0,15	7,0±0,15	+0,9*
	7 (240)	8,2±0,15	8,0±0,17	-0,2
	8 (300)	8,3±0,15	8,3±0,21	±0,0
	9 (420)	8,3±0,21	8,6±0,23	+0,3
431-6	1 (0)	5,9±0,24	5,8±0,15	-0,1
	2 (30)	5,8±0,23	5,3±0,23	-0,5
	3 (60)	5,5±0,24	5,6±0,21	+0,1
	4 (120)	5,2±0,17	5,2±0,15	±0,0
	5 (180)	5,2±0,21	5,5±0,15	+0,3
	6 (210)	5,8±0,15	5,6±0,17	-0,2
	7 (240)	6,2±0,15	7,1±0,15	+0,9*
	8 (300)	7,4±0,15	7,7±0,21	+0,3
	9 (420)	7,6±0,21	8,3±0,23	+0,7

Примечания:

¹ Время от начала одиночного цикла репродукции в минутах с момента переноса флаконов с культурой клеток после адсорбции вируса в CO₂-инкубатор для нагрева до 37°C.

² Средняя величина инфекционной активности (X) ± стандартная ошибка (s).

³ Разность величин инфекционной активности (D), определенной без роданина и с роданином.

* Статистически значимое ($p < 0,05$) различие инфекционной активности, определенной без роданина и с роданином.

Результаты определения инфекционной активности в одиночном цикле репродукции ЕСНО-11 клонов 431-1 и 431-6 без роданина и в присутствии роданина представлены на рисунке 58.

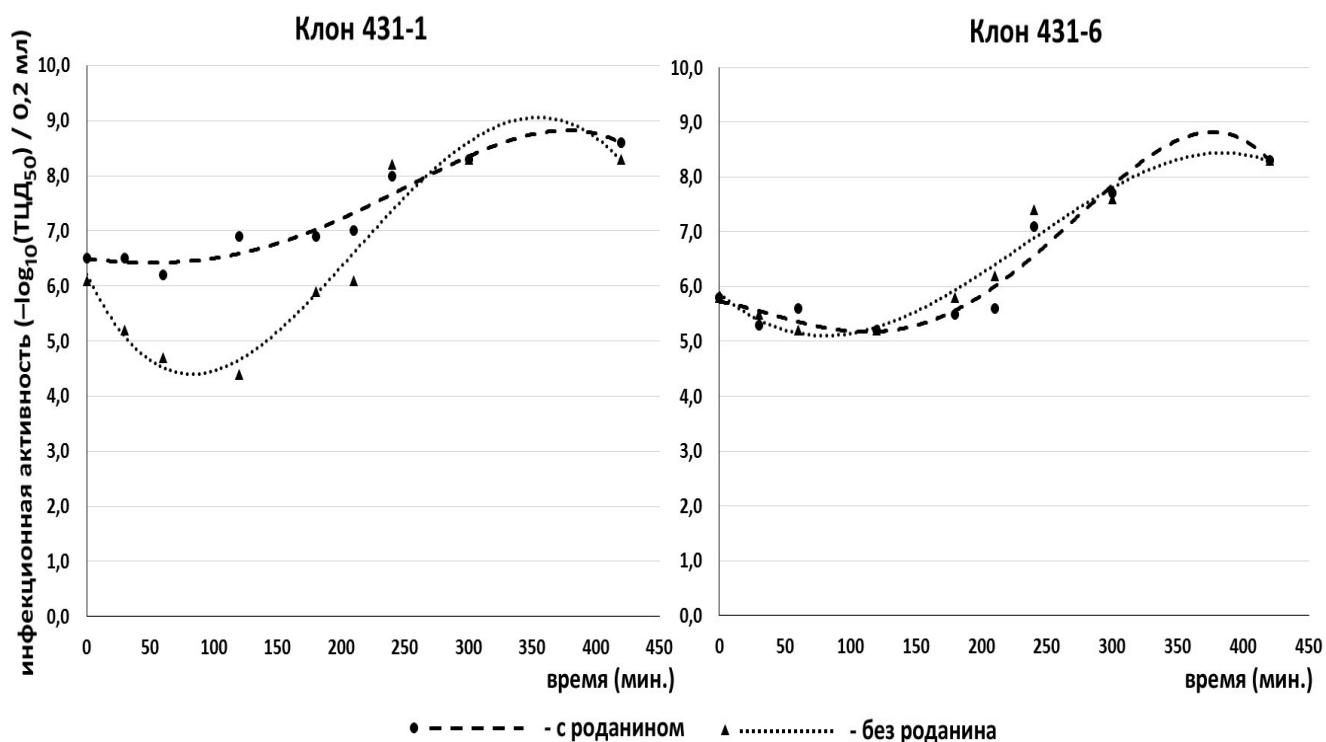


Рисунок 58 Результаты определения инфекционной активности в одиночном цикле репродукции клонов энтеровирусов ЕСНО-11 (431-1 и 431-6) с роданином и без роданина

Сравнительный анализ графиков одиночного цикла репродукции двух близкородственных клонов 431-1 и 431-6, отличавшихся по способности к взаимодействию с клеточным рецептором daf (CD55), выявил пониженную интенсивность депротенинизации у негемагглютинирующего клона 431-6 по сравнению с гемагглютинирующим клоном 431-1. 3. Роданин проявил более выраженное ингибирующее действие на депротенинизацию гемагглютинирующего клона daf⁺ (431-1), чем негемагглютинирующего daf⁻ (431-6).

Нистатин (Nystatin, C₄₇H₇₅NO₁₇) – антимикробный противогрибковый препарат полиенового ряда, высокоактивный в отношении дрожжеподобных грибов рода *Candida*, широко используется в терапии кандидозов, в отношении бактерий неактивен. Впервые был выделен из *Streptomyces noursei* в 1950 году. В структуре антимикотика имеются двойные связи, обладающие высокой тропностью к стероловым структурам клеточной мембраны грибов, что способствует встраиванию молекулы препарата в мембрану клетки и образованию большого количества каналов, через которые осуществляется бесконтрольный

транспорт электролитов; повышение осмолярности внутри клетки приводит к её гибели. Резистентность развивается медленно. Применяют нистатин для профилактики и лечения заболеваний, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida*; кандидоза слизистых оболочек (рта, влагалища и др.), кожи и внутренних органов (желудочно-кишечного тракта, легких, почек и др.). В последнее время имеет широкое применение с профилактической целью для предупреждения развития кандидоза.

Для изучения влияния нистатина (ингибитора липидных плотов) на интенсивность интернализации близкородственных клонов вируса ЕСНО-11 с различной рецепторной специфичностью: взаимодействующего с первичным рецептором DAF (daf⁺) и не взаимодействующего с DAF (daf⁻), аналогично предыдущему эксперименту, использовали перевиваемую линию клеток RD. Культуру клеток выращивали при 37°C в культуральных пластиковых 96-луночных планшетах и пластиковых культуральных флаконах площадью 25 см² (Corning-Costar, США), в течение 48-72 часов до образования плотного монослоя. В качестве модели были использованы, как в предыдущем эксперименте, два близкородственных клона daf⁺ и daf⁻.

Анализ графиков динамики численности вирусной популяции в эксперименте по определению инфекционной активности в одиночном цикле репродукции клонов 431-1 и 431-6 вируса ЕСНО-11 в культуре клеток RD без нистатина и в присутствии нистатина, позволил установить, что ингибирующий эффект нистатина на репродукцию daf⁺ клона 431-1 связан с задержкой интернализации, с пониженной интенсивностью депротенинизации и с пониженной эффективностью синтеза новых вирионов (Рисунок 59).

В пользу данного вывода свидетельствовали сдвиг вправо точки перегиба графика вниз, определяющий момент начала массивной депротенинизации и точки начала восходящего участка графика, соответствующего эффективному синтезу новых вирионов. В одиночном цикле репродукции daf⁻ клона 431-6 при использовании нистатина не было выявлено достоверного изменения формы начального участка графика, хотя наблюдалось снижение уровня адсорбции

вируса на клетках. В случае клона 431-6 не наблюдалось выраженного снижения интенсивности депротенинизации вирусной РНК, обусловленного действием нистатина.

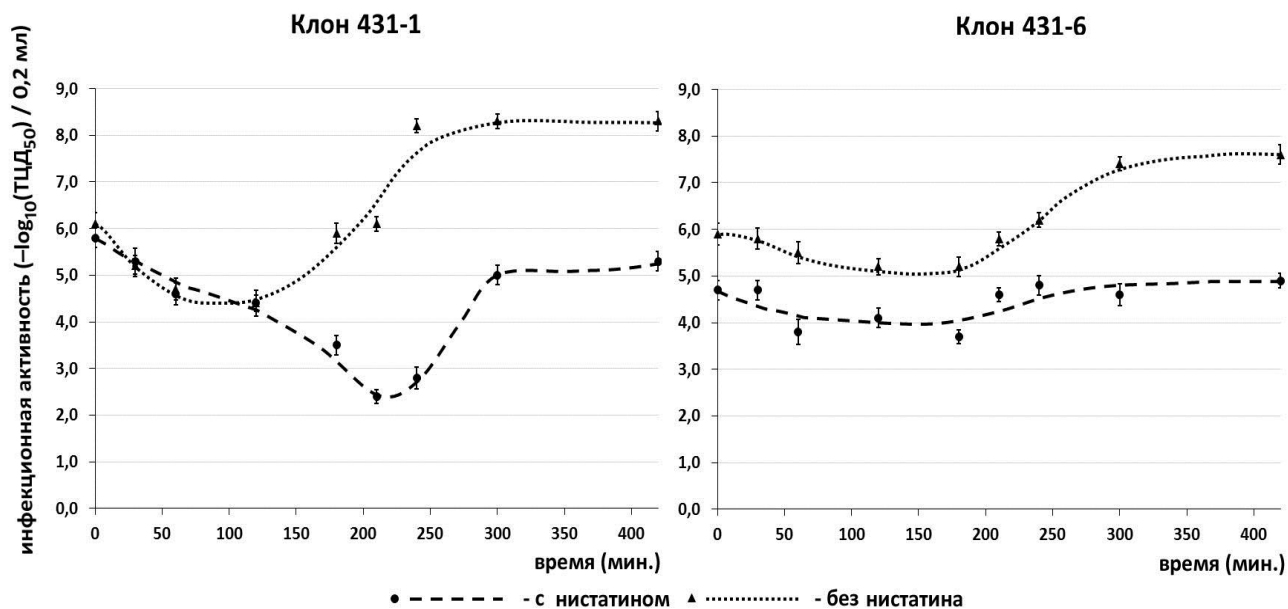


Рисунок 59 Результаты определения инфекционной активности в одиночном цикле репродукции клонов энтеровирусов ЕСНО 11 (431-1 и 431-6) с нистатином и без нистатина

Выраженный ингибирующий эффект нистатина указывал на использование *daf+* клоном 431-1 интактных липидных плотов для интернализации в клетку. Таким образом, ингибирующий эффект нистатина на репродукцию *daf+* клона вируса ЕСНО-11 в культуре клеток RD был связан с задержкой интернализации, с пониженной интенсивностью депротенинизации и с пониженной эффективностью синтеза новых вирионов, что подтверждает необходимость наличия интактных липидных плотов в плазматической мембране клеток для интернализации *daf+* клона. Ингибирующий эффект нистатина не наблюдался в отношении *daf-* клона ЕСНО-11, который, вероятно, использует другой путь интернализации в клетках RD, не требующий участия липидных плотов плазматической мембраны.

Результаты эксперимента позволили сделать вывод о наличии ингибирующих свойств роданина и нистатина на цикл репродукции наиболее

вирулентного, гемагглютинирующего (daf+) клона энтеровируса ЕСНО-11, что дает перспективы целенаправленного создания высокоэффективных средств неспецифической профилактики для элиминации НПЭВ из входных ворот инфекции.

Таким образом, в ходе поиска современных средств и способов неспецифической профилактики ЭВНИ на примере изучения новых химических соединений (роданина и нистатина) и растительных биологических субстанций (3 % водно-глицериновых экстрактов пихты и ели) было установлено ингибирующее влияние роданина и нистатина на рецепторный аппарат энтеровирусов, а водно-глицериновые субстраты пихты и ели в 3 % концентрации показали высокую бактерицидную и вирулицидную активность. Новый способ обработки воздуховодов с использованием доступного и эффективного прибора, генерирующего аэрозоль с размером частиц 5-25 мкм, позволит повысить эффективность работы систем вентиляции. Представленные в данной главе новые антимикробные средства с выраженным вирулицидным эффектом и разработанный способ дезинфекции НПЭВ приведет к повышению эффективности неспецифической профилактики других актуальных вирусных патогенов. Это имеет бесспорное государственное значение в связи с глобальными вызовами и угрозами человечеству: появляющимися и вновь возвращающимися инфекциями и ростом антимикробной резистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологическая безопасность является одной из ключевых составляющих общей системы безопасности, обеспечивающей стабильное развитие государства. Возникновение новых очагов напряженности может привести к тяжелым последствиям не только для отдельных государств, но и для всего человечества. Анализ событий, происходящих в мире в последние годы и затрагивающих область биологической безопасности, выявляет целый ряд принципиально новых важных тенденций, значение которых еще предстоит детально оценить. Ежегодно в мире инфекционные и паразитарные болезни регистрируют более чем у двух миллиардов людей, в результате от них умирают 16 миллионов человек [48]. Прежде всего, это относят к инфекциям вирусной этиологии, которые на современном этапе приобретают доминирующее положение в силу ряда причин: массовый характер заболеваний, тяжелое клиническое течение, сложность диагностики, высокая изменчивость биологических агентов, быстрое формирование резистентности, в большинстве случаев отсутствие эффективных средств профилактики и терапии. Появляются новые для ряда регионов вирусы, регистрируют ранее неизученные патогены. Именно по этим причинам в последние два десятилетия понятие биологической безопасности стали намного чаще использовать в политической риторике и в научной литературе.

Эпидемиологический надзор и контроль за энтеровирусной (неполио) инфекцией (ЭВНИ) для РФ приобретает особое значение, поскольку рассматривается в рамках одной из составляющих надзора и контроля за полиомиелитом. Россия в 2002 году успешно прошла сертификацию ВОЗ и до настоящего времени является свободной от полиомиелита территорией.

В РФ система эпидемиологического надзора за ЭВНИ признана одной из самых эффективных, поскольку имеет многоуровневый характер, современную теоретическую основу и сильное материально-техническое обеспечение. Научной и методической базой по изучению ЭВНИ в РФ являются референс-центры по

мониторингу за энтеровирусной инфекцией (ФБУН «Нижегородский Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора и ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН») и региональные научно-методические центры на базе научно-исследовательских институтов Роспотребнадзора (ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной», ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» и ФБУН Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций).

Несмотря на достижения последних десятилетий в области изучения эпидемиологии, этиологии, патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики ЭВНИ, а также мероприятий по организации мониторинга НПЭВ и укреплению лабораторной базы учреждений, осуществляющих индикацию и идентификацию возбудителя, глубокий эпидемиологический анализ заболеваемости в ряде актуальных территорий РФ, оценка эпидемической значимости отдельных представителей НПЭВ в развитии групповой заболеваемости, вопросы прогнозирования эпидемической ситуации и оптимизация основных направлений эпидемиологического надзора и контроля ЭВНИ до настоящего времени остаются открытыми и приобретают особую значимость вследствие глобальных вызовов и угроз биогенного характера.

В связи с этим генеральная идея проводимого диссертационного исследования была нацелена на разработку новых подходов к эпидемиологическому надзору и контролю ЭВНИ на основе изучения основных тенденций эпидемического процесса, сравнительного анализа его проявлений на территориях, отличающихся по уровню заболеваемости, прогнозирования эпидемической ситуации и этиологии тяжелых форм, совершенствования эпидемиологической диагностики, средств и способов неспецифической профилактики. Методологической основой представленной диссертации явились основные учения и положения ведущих отечественных ученых в области

эпидемиологии: Л.В. Громашевского (1960 г.), Б.Л. Черкасского (1986 г.) и В.Д. Белякова (1987 г.).

Диссертационная работа проводилась в рамках прикладных и фундаментальных исследований по комплексному научно-методическому и практическому обеспечению профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на поддержание биологической безопасности населения Уральского федерального округа в рамках реализации отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно-ориентированные научные исследования в области надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016 – 2020 годы». Объем объектов наблюдения для анализа заболеваемости составил 911 форм статистического наблюдения, объем лабораторных исследований - 9 605 единиц, для филогенетического анализа использованы 133 нуклеотидные последовательности НПЭВ, для оценки инфекционной активности клонов вируса проведено 18 серий экспериментов, 24 и 12 серий постановочных опытов по изучению антибактериальной и вирулицидной активности экстрактов растительных веществ в качестве кандидатов дезинфицирующих (антисептических средств), а также 20 экспериментальных исследований для оценки эффективности нового способа аэрозольной дезинфекции. Всего проведено 74 серии научных экспериментов.

В работе применены общенаучные подходы и специальные методы: эпидемиологические, вирусологические, молекулярно-генетические, санитарно-микробиологические, экспериментальные, филогенетический анализ, математическое моделирование и статистическая обработка данных.

На первом этапе работы проанализирована заболеваемость ЭВНИ на территории РФ за 14 летний период наблюдения (2006-2019 гг.). По статистическим данным учетно-отчетных форм установлено, что заболеваемость ЭВНИ в РФ имела неравномерный характер распределения по годам и выраженную тенденцию к росту. Среднегодовой уровень заболеваемости по официальным данным составил $7,25\%_{0000}$, среднегодовой темп прироста - 4,4 % (угол наклона линейного тренда 34 %). При этом стандартный

эпидемиологический подход к оценке заболеваемости за анализируемый период времени свидетельствовал о том, что применяемые математические модели (линейная, логарифмическая, степенная, экспоненциальная) неудовлетворительно аппроксимировались на отдельные временные ряды. Определено два периода с разнонаправленными трендами (2006-2009 гг. и 2010-2019 гг.).

Временной отрезок с 2010 г. по 2019 г. наиболее оптимально соответствовал уровню заболеваемости по степенной аппроксимации. Анализ заболеваемости с использованием данного подхода показал, что среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВНИ в РФ за изучаемый период был выше рассчитанного ранее показателя и составил $8,09\text{‰}$, среднегодовой темп прироста – 17,7 % (угол наклона линейного тренда 50°). В соответствии со степенной функцией развитие эпидемического процесса ЭВНИ в этом периоде характеризовало его, как неуправляемый с неблагоприятным прогнозом. Пиковое значение показателя зарегистрировано в 2017 г. ($16,32\text{‰}$), минимальный уровень – в 2010 ($2,91\text{‰}$).

Сравнение показателей заболеваемости всего временного ряда (2006-2019 гг.) и временного ряда с 2010-2019 гг. – среднегодовой темп прироста (4,4 % против 17,7 %) и угол наклона линейного тренда (34° против 50°) имели статистически значимые отличия ($\chi^2=11,08$, d.f.=1, $p=0,0009$). Выявленные отличия в показателях заболеваемости, характеризующих многолетнюю динамику, свидетельствовали в необходимости широкого внедрения методов математического моделирования в работу эпидемиологических и статистических служб при оценке многолетней заболеваемости, прежде всего, при ее неравномерном распределении по годам.

При изучении цикличности заболеваемости ЭВНИ с использованием спектрального анализа Фурье была выявлена 4-х летняя периодичность. Подъемы заболеваемости зарегистрированы в 2009 году ($4,72\text{‰}$), в 2013 г. ($11,21\text{‰}$) и в 2017 г. ($16,31\text{‰}$), при этом каждый последующий подъем превышал предыдущий. Локальные минимумы заболеваемости регистрировали в 2010 г.

(2,91°/0000), в 2014 г. (6,35°/0000), 2015 г. (5,36°/0000), также с периодичностью в 4 года.

Заболееваемость ЭВНИ имела выраженную летне-осеннюю сезонность (с июля по ноябрь) с удельным весом заболевших лиц в месяцы сезонного подъема - 82,0 %, максимальными показателями заболеваемости в августе и сентябре и выраженной 12-ти месячной периодичностью без значительных сдвигов начала и окончания эпидемического подъема. Эпидемический порог с января по май не превышал 0,443°/0000, его минимальное значение пришлось на апрель - 0,178°/0000, максимальное на июнь - 0,575°/0000 и декабрь - 0,503°/0000.

При оценке очаговости было установлено, что с 2006 г. по 2018 г. из 128820 выявленных случаев ЭВНИ 9845 - пришлось на пострадавших из очагов групповой заболеваемости с 3 и более случаями (492 очага), что составило 7,6 %.

Показатель заболеваемости в очагах составил 0,52°/0000, максимальный в 2017 году - 1,66°/0000, минимальный в 2012 - 0,13°/0000. Многолетняя динамика заболеваемости в очагах с тремя и более случаями характеризовалась стабильностью (U-тест: $U=11$, $p=0,1747$) и коррелировала с кривой заболеваемости ЭВНИ в целом ($R=0,857763$, $p=0,00017$), что свидетельствовало о существенном влиянии групповой заболеваемости на формирование эпидемического неблагополучия. Среднемноголетний показатель общей очаговости составил 20,01 с колебаниями от 9,0 до 59,2 и неравномерным распределением по годам. Корреляционная связь показателя очаговости с показателем заболеваемости отсутствовала (коэффициент корреляции Пирсона составил $R=0,10$), однако, имела место сильная прямая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена $R_s=0,813$, при $p=0,0007$) между долей лиц, вовлеченных в эпидемический процесс с общим числом случаев ЭВНИ.

Группой риска явились дети со среднемноголетним уровнем заболеваемости 70,83°/0000 и среднегодовым темпом прироста 18,7 %. Среднемноголетний уровень заболеваемости среди взрослых был существенно ниже и составил 0,87°/0000, среднегодовой темп прироста - 8,9 %. В общей структуре заболевших доля детей была значительной 89,0 %, а относительный

риск возникновения ЭВНИ среди детского населения в 66,4 раз выше, чем среди взрослых ($RR= 66,392$, 95 % ДИ от 62,393 до 70,646). Максимальный показатель заболеваемости у взрослых в 2017 г. ($1,70\text{‰}/0000$) был в 83,6 раз ниже ($142,12\text{‰}/0000$) аналогичного показателя среди детей. Многолетняя тенденция заболеваемости ЭВНИ среди взрослых не имела достоверных отличий от многолетней тенденции среди детей, динамические ряды ежемесячной динамики заболеваемости между группами имели тесную корреляционную связь ($k=0,97$). Низкий уровень заболеваемости ЭВНИ взрослых, очевидно, обусловлен их невосприимчивостью к инфекции в силу ранней встречаемости с НПЭВ, а также с низкой обращаемостью лиц старше 18 лет за медицинской помощью в случае легких клинических форм и отсутствием в клинических стандартах определения безусловного и вероятного случая ЭВНИ.

Пики заболеваемости ЭВНИ в обеих возрастных группах приходились на август-сентябрь. Выявлено, что в годы эпидемического неблагополучия превышение порогового уровня заболеваемости у детей наблюдалось на 1-2 месяца раньше по сравнению с взрослыми. В годы эпидемического благополучия рост заболеваемости среди взрослых и детей начинался в одни и те же месяцы. Выявленная нами закономерность позволила заключить, что раннее вовлечение в эпидемический процесс детского населения, опережающее на 1-2 месяца взрослое население, следует рассматривать в качестве прогностического признака эпидемического неблагополучия по ЭВНИ на территории.

Отдельную регистрацию в формах официальной статистической отчетности имеет энтеровирусный менингит (ЭВМ). Его доля в структуре общей заболеваемости составила 26,29 % в общей популяции, 25,98 % – среди детей, 28,64 % – среди взрослых. СМУ заболеваемости ЭВМ за изучаемый период составил $2,50\text{‰}/0000$ со среднегодовым темпом снижения – 0,3 %. Пик заболеваемости имел место в 2013 г. ($5,00\text{‰}/0000$) не совпадал с пиком заболеваемости ЭВНИ в целом (2017 г. – $16,32\text{‰}/0000$). Отметим, что начиная с 2009 года, наблюдалась выраженная тенденция к снижению доли лиц с ЭВМ в общей структуре клинических форм с 63 % (2009 г.) до 22 % (2018 г.) или в 2,9 раза.

Линейный тренд снижения составил 11 %. коэффициент детерминации линейной аппроксимации – $R^2=0,9$, среднегодовой темп снижения - 89 %, что, очевидно, явилось результатом улучшения лабораторной диагностики, как следствие, активная регистрация «малых» клинических форм ЭВНИ. Именно в это время в территориальных органах Роспотребнадзора, где преимущественно осуществляется идентификация возбудителей ЭВНИ, широкое внедрение получили методы молекулярной генетики (ПЦР), а на базе научно-методических центров по изучению ЭВНИ развернуты лаборатории по секвенированию образцов клинических материалов.

Многолетняя динамика заболеваемости ЭВМ характеризовалась периодичностью в 4 года. Пик заболеваемости ежегодно приходился на август-сентябрь. Сезонные подъёмы заболеваемости ЭВМ начинались вместе с другими клиническими формами ЭВНИ, однако, как правило, завершались на месяц раньше. Коэффициент сезонности составил 71 %. В месяцы сезонного подъема наблюдался существенный рост очагов с 3-мя и более случаями. Коэффициент корреляции между уровнем заболеваемости ЭВМ и количеством очагов с 3-мя и более случаями составил 0,69 ($p=0,0085$). Возрастная структура заболеваемости ЭВНИ и ЭВМ существенно не отличались ($\chi^2=0,095$, d.f.=1, $p=0,757$). Относительный риск возникновения у детей ЭВМ был в 58,0 раз выше, чем у взрослых ($RR= 58,045$, 95 % ДИ от 52,582 до 64,076).

Таким образом, в РФ эпидемический процесс по ЭВНИ за период 2006-2019гг. характеризовался неравномерным распределением по годам, 4-х летней периодичностью и летне-осенней сезонностью. Существенное влияние на эпидемический процесс оказывали очаги групповой заболеваемости с числом случаев 3 и более. Группой риска явились дети. При этом в годы максимального подъёма заболеваемости вовлечение детского населения в эпидемический процесс наблюдалось на 1-2 месяца раньше, относительно взрослого населения, в данной когорте наблюдался высокий риск развития тяжелой клинической формы – ЭВМ. В целом многолетняя динамика заболеваемости ЭВМ в РФ за изучаемый период времени характеризовалась стабильностью.

На следующем этапе работы для более детального анализа причин заболеваемости ЭВНИ на отдельных территориях, отличающихся по уровню заболеваемости, были отобраны субъекты с наиболее полной этиологической расшифровкой случаев ЭВНИ. В их число вошли Свердловская, Челябинская, Тюменская, Томская, Кемеровская, Омская, Новосибирская области и Ханты-Мансийский автономный округ – Югра (ХМАО).

В группу с высоким уровнем заболеваемости, достоверно превышающим показатели по РФ, вошли Томская, Тюменская, Свердловская области и ХМАО. В группу с уровнем заболеваемости соответствующим или ниже среднероссийских показателей – Курганская, Кемеровская, Челябинская, Новосибирская и Омская. Для этого, временной ряд показателей заболеваемости каждого из регионов (2006-2019 гг.) сравнивали с аналогичным временным рядом по РФ. Из показателей по РФ были исключены численность населения региона и количество случаев ЭВНИ. В качестве статистического критерия различия использовали критерий Манна-Уитни для 2-х независимых выборок.

Тенденции развития эпидемического процесса на территориях с высокой интенсивностью во многом повторяли таковую по РФ с сильной корреляционной связью между показателями заболеваемости ($R=0,94$, корреляция для цепных приростов $R=0,84$), имели 4-х летнюю периодичность и летне-осеннюю сезонность с преимущественным вовлечением в эпидемический процесс детского населения (89,0 %) с темпом прироста 31,6 % и относительным риском заболевания ЭВНИ среди детей в 2,7 раза выше, чем в целом у детей на территории РФ ($RR=2,700$, 95 % ДИ от 2,568 до 2,839). Каждый 6-й случай ЭВНИ в РФ регистрировали на этих территориях. Доля пострадавших в эпидемических очагах с числом случаев 3 и более составила 15,2 %, показатель очаговости – 34,8, что в 2,0 и 1,7 раза превысило показатели по РФ (7,6 % и 20,0). Среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВМ на этих территориях соответствовал $9,13\text{‰}$ и превышал аналогичный показатель по РФ ($2,45\text{‰}$) в 3,7 раза, при этом, в отличие от четырехлетней периодичности заболеваемости ЭВМ в РФ, эпидемический процесс при ЭВМ имел ярко выраженную 2-х летнюю

периодичность. Существенный вклад в заболеваемость ЭВМ пришелся на Свердловскую область, где было зарегистрировано 11 % всех случаев ЭВМ на территории РФ.

Динамика заболеваемости на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса (показатель – $5,53\text{‰}$, $\sigma=3,96\text{‰}$), также как динамика заболеваемости в целом по РФ и на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса имела ярко выраженную 4-летнюю периодичность. Доля лиц, вовлечённых в эпидемический процесс групповой заболеваемости, составила лишь 2,8 % от общего числа с показателем очаговости 7,21. СМУ заболеваемости среди детей составил $52,24\text{‰}$, среднегодовой темп прироста 8,6 %.

Среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВМ на этих территориях составил $3,29\text{‰}$, темп прироста - 11,2 %. Доля ЭВМ в клинической структуре за изучаемый период времени варьировала от 26,1 % до 90,6 %, что свидетельствовало о существенных недоучетах случаев ЭВМ при регистрации. Это предположение подтверждал и тот факт, что относительный риск заболеть ЭВМ в этой группе «благополучных» территорий оказался в 1,3 раза выше, чем в среднем по РФ ($RR= 1,340$, 95 % ДИ от 1,207 до 1,488), что может свидетельствовать о существенном недоучете легких форм ЭВНИ.

Таким образом, анализ данных официальной статистики о проявлениях эпидемического процесса ЭВНИ на территориях с различной степенью интенсивности позволил выявить ряд особенностей и в его качественных проявлениях. К общим закономерностям можно отнести наблюдающуюся тенденцию к росту, 4-х летнюю периодичность, летне-осеннюю сезонность и высокую заболеваемость детского населения. К отличительным признакам отнесены 2-х летняя периодичность при ЭВМ на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса и показатели очаговости, такие как, доля заболевших в очагах с неединичными случаями в структуре заболеваемости в целом (превышение в 5,4 раз) и показатель общей очаговости (превышение в 22,5 раза). Изложенное выше, позволяет рассматривать эти проявления

эпидемического процесса как признаки прогностического эпидемического неблагополучия, которые могут быть использованы в предэпидемической диагностике ЭВНИ и диктуют необходимость качественного выявления очагов с неединичными случаями заболевания и проводить в них обоснованные противоэпидемические и профилактические мероприятия.

Обращает внимание, что на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса регистрируется высокий уровень заболеваемости ЭВМ. Так, в целом по РФ доля лиц с ЭВМ в общей структуре ЭВНИ составила 30,9 % (при СМУ общ = $8,09\text{‰}$, СМУ ЭВМ = $2,50\text{‰}$), на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса - 34,9 % (при СМУ общ = $26,15\text{‰}$, СМУ ЭВМ = $9,13\text{‰}$), на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса – 59,5 % (при СМУ общ = $5,53\text{‰}$, СМУ ЭВМ = $3,29\text{‰}$). Среднемноголетний уровень заболеваемости по ЭВМ на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса в 1,32 раза превысил среднероссийский уровень ($3,29\text{‰}$ против $2,50\text{‰}$) и имел выраженную тенденцию к росту (11,2 %) против стабилизации показателя по РФ (-0,3) и оказался даже выше показателя на «неблагополучных» территориях (2,8 %). Территории, характеризующиеся низким уровнем заболеваемости ЭВНИ и высоким уровнем заболеваемости ЭВМ, на наш взгляд, могут быть отнесены к территориям «мнимого благополучия». Следовательно, объективная оценка эпидемиологической ситуации по ЭВНИ может быть дана только по совокупности показателей, характеризующих проявления эпидемического процесса. На территориях с высоким уровнем интенсивности необходима качественная эпидемиологическая диагностика очагов с неединичными случаями заболеваемости и вспышек, а также своевременное проведение максимально обоснованных противоэпидемических мероприятий с использованием инновационных средств и способов неспецифической профилактики. На территориях с низким уровнем регистрируемой заболеваемости оценка эпидемической ситуации должна проводиться по сочетанию показателя заболеваемости ЭВНИ и ЭВМ с оценкой тенденции в многолетней динамике. В

целях выявления скрытой компоненты эпидемического процесса необходима разработка стандартного случая ЭВНИ и внедрение современных методов лабораторной диагностики с детальным изучением биологического фактора.

С этой целью был проведен анализ циркуляции отдельных серотипов энтеровирусов в разрезе территорий с высоким и низким уровнем заболеваемости за три года (2017-2019 гг.). Изучены пробы клинических материалов от пациентов (ликвор, кровь, фекалии, смывы из носоглотки) с установленным диагнозом ЭВНИ (1147 человек), и контактных лиц из очагов (36 человек). Таким образом, количество изученных штаммов НПЭВ, составило 1183, из эпидемических очагов с 1-2 случаями – 639, из очагов с 3 и более случаями – 544. Генотипирование НПЭВ проводили методом сравнения участков генома (гены VP1 и VP2, структурная область P1). Результаты исследований выявили циркуляцию 35 серотипов энтеровирусов, в т.ч. Enterovirus A – 42,0 %, Enterovirus B – 56,0 %, Enterovirus C – 2,0 % с преобладанием Coxsackievirus A6 и Echovirus E30. Несмотря на общее доминирование двух серотипов Coxsackievirus A6 и Echovirus E30, на территориях с различными показателями заболеваемости наблюдались отличия в этиологической структуре. При высоком уровне заболеваемости, в этиологической структуре существенное место занимали серотипы Coxsackievirus A6, Echovirus E30, Coxsackievirus A16, Echovirus E18 и Coxsackievirus B5, Enterovirus A71, при низком – Echovirus E30, Coxsackievirus A6, Coxsackievirus A2, Coxsackievirus B4, Coxsackievirus B5, Echovirus E6. Отдельные серотипы встречались только на неблагополучных территориях, другие циркулировали лишь на территориях с низким уровнем заболеваемости. Анализ частоты встречаемости НПЭВ в очагах с числом случаев 3 и более, также позволил установить доминирующую роль на территориях с высоким уровнем заболеваемости двух серотипов: Coxsackievirus A6 (35,9 %) и Echovirus E30 – 122 (28,0 %). На территориях с низкими показателями заболеваемости ЭВНИ, в очагах групповой заболеваемости доминировал серотип Coxsackievirus A6 (72,5 %), а Echovirus E30 преимущественно регистрировали при спорадических (единичных) случаях.

В настоящее время в эпидемических очагах групповой заболеваемости недостаточное внимание уделяется расшифровке серотипа НПЭВ – как правило, лабораторное обследование контактных лиц не проводится. В исключительных случаях ограничиваются исследованием биологического материала методом ПЦР (наличие факта вирусывыделения). Поэтому из 81 очагов групповых случаев ЭВНИ удалось изучить биологический материал с определением серотипа НПЭВ лишь в 21 случае. При этом в структуре НПЭВ у контактных лиц преобладал серотип Enterovirus A71 (27,78 %), у больных - Coxsackievirus A6 (27,64 %) и Echovirus E30 (25,89 %), что свидетельствует о необходимости расширения обследования контактных лиц и изменения подхода к отбору проб клинических материалов с учетом локализации инфекционного процесса (в настоящее время регламентом установлено преимущественное исследование проб фекалий).

В развитии тяжелых клинических форм, прежде всего при ЭВМ ведущую роль играли Enterovirus B (Echovirus E30), локализованные формы ЭВНИ преимущественно определяли Enterovirus A (Coxsackievirus A6). Так, при герпангинах в этиологии преобладали Coxsackievirus A6 (39,0 %) и Coxsackievirus A16 (25,6 %), при фарингитах - Coxsackievirus A6 (37,1 %) и Coxsackievirus A21 (25,7 %), при стоматитах, экзантемах и сочетанных формах Coxsackievirus A6 (89,2 %, 60,5 % и 71,8 %). Возбудители, формирующие крупные эпидемические очаги, лидировали в общей этиологической структуре (87,4 %) как на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса (86,3 %), так на территориях с низкими показателями заболеваемости (89,2 %), спектр циркулирующих энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости имел меньшее разнообразие, чем при спорадических случаях.

Специфика клинических форм в каждой возрастной категории определила преобладающие серотипы у детей (до 3-х лет – Coxsackievirus A6; от 4 до 6 лет – Echovirus E30 и Coxsackievirus A6; от 7 до 15 лет - Echovirus E30) и у взрослых (от 18 лет – Echovirus E30 и Coxsackievirus A6).

Филогенетический анализ двух актуальных серотипов НПЭВ – Echovirus E30 (81 изолят) и Coxsackievirus B5 (52 изолята) позволил установить, что их

различные субтипы (генотипы) имеют неодинаковую эпидемическую значимость. В течение небольшого промежутка времени (одного сезона) может произойти существенная смена доминирующих вариантов. В циркуляцию активно включаются новые генетические варианты. Так, смена варианта вируса E30h на вариант E30e (циркулировавший на территории РФ до 2011 г.) привела в 2017 году к самому большому за весь период наблюдения (2006-2019 гг.) всплеску заболеваемости в РФ. Штаммы нового геноварианта Coxsackievirus B5, генетически родственные штаммам из Китая и обнаруженные в 2017-2018 гг. преимущественно на территориях Омской, Томской областей и ХМАО, в этиологической структуре ЭВНИ вышли в Томской области на первое место (31,0 %), и на второе – в Омской области (13,2 %), опередив ведущих представителей Echovirus E30 и Coxsackievirus A6.

Дать объективную оценку последствиям этого сложного биологического процесса можно будет лишь спустя определенный промежуток времени и по мере накопления новых научных знаний. В настоящее время можно лишь с уверенностью констатировать, что смена доминирующего состава циркулирующих генетических вариантов НПЭВ существенным образом отражается на заболеваемости ЭВНИ и свидетельствует о необходимости непрерывного слежения за динамикой циркуляции актуальных возбудителей на территории с целью раннего выявления предвестников эпидемического неблагополучия с использованием современных методов лабораторной диагностики.

Оценку интенсивности циркуляции НПЭВ среди населения на территории РФ в настоящее время осуществляют несколькими методами. В их числе вирусологическое исследование сточных вод и оценка частоты «здорового» вирусоносительства среди населения.

Проведение вирусологического исследования сточных вод, как объектов окружающей среды на наличие НПЭВ, входит в программу «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» (реализуется в России более 10 лет). В Российской Федерации данное

исследование регламентируется нормативно-методическими документами: СП «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» (СП 3.1.2950-11), МУ «Эпидемиологический надзор за энтеровирусной (неполио) инфекцией» (МУ 3.1.1.2363), МУК «Организация и проведение вирусологических исследований материалов из объектов окружающей среды на полиовирусы, другие (неполио) энтеровирусы» (МУК 4.2. 2357-08).

При оценке «здорового» вирусносительства ранее было установлено, что наиболее информативной возрастной группой для оценки интенсивности циркуляции НПЭВ среди населения является возрастная группа детей 3-6 лет, а сравнительный филогенетический анализ НПЭВ, выделенных из фекалий здоровых детей и из ликвора больных лиц с ЭВМ показал высокое генетическое родство у штаммов одного серотипа, обнаруженных в одном эпидемическом сезоне в ликворе больных и фекалиях индикаторной группы [67].

Сравнительная оценка эффективности исследования проб сточных вод и фекалий «здоровых» детей для прогнозирования этиологии наиболее тяжелой клинической формы ЭВНИ – энтеровирусного менингита, была проведена нами на примере крупного мегаполиса, г. Екатеринбурга. Установлено, что группой риска по заболеваемости ЭВМ явилась возрастная группа детей от 3 до 6 лет ($186,49\text{‰}$). Заболеваемость в этой возрастной группе в 2,1 раза превысила заболеваемость среди детского населения г. Екатеринбурга ($89,08\text{‰}$) и в 9,9 раза - среди всего населения города ($18,82\text{‰}$). Уровень заболеваемости в остальных возрастных группах детского населения был существенно ниже. Это позволило нам определить возрастную когорту детей от 3-х до 6-ти лет как «индикаторную» группу для прогнозирования этиологии ЭВМ.

Анализ результатов исследований 4524 проб фекалий от детей «индикаторной» группы, проведенных в 2011– 2017 гг. в ежемесячном разрезе, позволил установить, что подъему заболеваемости ЭВМ всегда предшествовало увеличение частоты обнаружения НПЭВ в фекалиях «индикаторной» группы. В группе «здоровых» носителей и среди больных ЭВМ за 7-летний период наблюдения выявлен высокий процент совпадений НПЭВ по представительству

групп Coxsackievirus B и ЕСНО. Все серотипы Coxsackievirus B и ЕСНО (100,0 %), обнаруженные у пациентов с ЭВМ в ликворе, встречались в кишечнике здоровых носителей. В то же время 83,6 % Coxsackievirus B и 97,5 % ЕСНО, колонизирующих кишечник здоровых детей, стали причиной развития ЭВМ. Однако, установленная нами высокая сопоставимость этиологического пейзажа серотипов НПЭВ при колонизации кишечника «здоровых» носителей и серотипов НПЭВ при ЭВМ в отдельные годы наблюдения не прослеживалась. В связи с чем, был проведен дополнительный анализ сопоставимости частоты встречаемости серотипов в разные временные интервалы (за 4, 5, 6, и 7 лет) и результаты исследований за 5-летний период оказались самыми достоверными. Сопоставимость по всем параметрам превысила 97,9 %.

Таким образом, включение на постоянной основе в систему молекулярно-генетического мониторинга за НПЭВ обследования здоровых носителей (дети 3-6 лет) с последующим анализом данных о циркуляции НПЭВ не менее, чем за пять лет, позволит прогнозировать этиологическую структуру ЭВМ на определенной территории.

Второй подход к методам прогнозирования эпидемиологической ситуации по заболеваемости ЭВНИ отводят вирусологическому и молекулярно-генетическому мониторингу сточных вод. Первые сообщения о присутствии в сточных водах НПЭВ, относят к 1957-1958 гг. [159, 160]. Авторы сообщали о выявлении в населенных пунктах штатов Нью-Йорк и Мичиган (США) вирусов Coxsackievirus B и ЕСНО, причем, НПЭВ обнаруживали в 2 раза чаще, чем вирусы полиомиелита. Дальнейшие результаты санитарно-вирусологических исследований сточных вод, проведенные во многих странах мира, свидетельствовали о повсеместной и круглогодичной циркуляции НПЭВ, масштабы которой варьировали в широких пределах [5, 21, 39, 46]. В странах с умеренным климатом отмечалось ежегодное повышение уровня циркуляции НПЭВ в летне-осенний период [132, 252, 278].

Анализ результатов проведенных санитарно-вирусологических исследований проб сточных вод и проб ликвора пациентов с ЭВМ в г.

Екатеринбурге за аналогичный период времени (2011 г. по 2017 г.) выявил низкий уровень обнаружения НПЭВ в сточных водах (4,3 %) и более узкий диапазон серотипов НПЭВ (7) относительно проб фекалий (30) и проб ликвора (19). В сточных водах преобладали энтеровирусы Coxsackievirus B (86,4 % случаев), в ликворе - ЕСНО (75,6 %). Большинство серотипов ЕСНО (2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17, 18, 25), обнаруживаемых в ликворе, не было выявлено в пробах сточных вод. Также из сточных вод была выделена часть неидентифицированных в реакции нейтрализации штаммов энтеровирусов.

Перечисленные выше факты, свидетельствовали о недостаточной эффективности использования результатов вирусологического мониторинга сточных вод для прогнозирования этиологии ЭВНИ. Полученные данные подтвердили результаты исследований, проведенных рядом авторов (Ivanova O.E., Yarmolskaya M.S. et al., 2019), о несоответствии частоты и спектра НПЭВ, обнаруженных в сточной воде и биологическом материале от больных ЭВМ в г. Москве [152]. В результате масштабных исследований, охватывающих десятилетний период (2008-2017 гг.) в сточных водах и материалах от больных ЭВМ г. Москвы ими было обнаружено 23 и 29 серотипов НПЭВ, соответственно. По данным авторов, с наибольшей частотой в сточных водах циркулировали штаммы НПЭВ, не имеющие эпидемиологической значимости, в то время как основной этиологический агент ЭВМ (вирус ЕСНО 30) практически не встречался.

Одним из существенных недостатков мониторинга сточных вод, на наш взгляд, является малое количество определяемых серотипов, в ряде случаев – невозможность их типирования, вследствие недостаточной эффективности концентрирования воды и ингибирующего влияния на возбудителей факторов химической и биологической природы. Однако динамическое наблюдение за НПЭВ в сточных водах может стать важным дополнительным звеном в системе вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга за ЭВНИ. Например, в случае осложнения эпидемиологической ситуации, когда не удастся собрать необходимое количество материала от заболевших лиц, а также при

отсутствии информации о спектре циркулирующих энтеровирусов на определенной территории с целью оценки их биологических характеристик и проведения филогенетического анализа.

Оценка эффективности вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга при исследовании биологических материалов от пациентов и проб сточные вод, как объектов по оценке этиологии ЭВНИ на отдельно взятой территории, показала важность качественной лабораторной диагностики на современном этапе. Так, из сточных вод выделить возбудитель и определить его серотип удалось лишь в 4,3 % случаев, в пробах фекалий «здоровых» детей индикаторной группы 3-6 лет – в 11,4 %, в пробах ликвора больных ЭВМ - 79,0 %, что ставит задачу оптимизации методов лабораторной диагностики ЭВНИ с целью качественного внутривидового типирования энтеровирусов.

Для проведения научных исследований в этом направлении были получены новые клеточные линии животных (из эмбрионов свиноматки), включая клеточные культуры гортани (ккГ), мышц (ккМ), почек (ккП) и легких (ккЛ). Цитопатогенное действие клеточных культур изучали на двух клинических штаммах НПЭВ - СВ5-8100 (Coxsackievirus B5) и E - 11/RD (Echovirus 11).

Серии экспериментов выявили чувствительность клеточной культуры почки (ккП) и гортани (ккГ) к штамму энтеровируса Coxsackievirus B5 (СВ5-8100). Учитывая, что эти клеточные линии являются новыми для практической вирусологии, представляет интерес продолжить изучение спектра их чувствительности к различным серовариантам энтеровирусов. Паспортизация клеточной культуры почки (ккП), открывает перспективы ее использования для изучения энтеровирусной инфекции с участием распространенного на территории РФ серотипа СВ5 и вместе с разработанным в ходе диссертационного исследования новым способом генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома (патент на изобретение RU 2701145), открывает новые возможности вирусологических и молекулярно-генетических методов для лабораторной диагностики ЭВНИ.

На ряде изучаемых территорий, характеризующихся высокой интенсивностью эпидемического процесса, была установлена высокая доля спорадической заболеваемости ЭВНИ. Как известно, в настоящее время эпидемические очаги с единичными случаями заболеваний ЭВНИ не обследуются, а их этиологическая расшифровка носит случайный, точечный характер. Кроме того, требуют коррекции подходы, применяемые к определению истинного количества очагов и их пространственных границ. Так, в ХМАО (2016 г.) при высоком уровне заболеваемости на территории, пространственные границы очага определялись в рамках всего населённого пункта. При таком подходе, искажаются показатели очаговости (показатель общей очаговости, продолжительность действия очага, динамика распространения инфекции в очаге и др.), необходимые для оценки эффективности противоэпидемических мероприятий и принятия управленческих решений по их локализации. Несомненно, такие подходы снижают нагрузку на санитарно-эпидемиологические учреждения, однако не способствуют прерыванию путей передачи НПЭВ и диктуют необходимость разработки унифицированных подходов к определению границ очага с использованием современных программных продуктов и IT-технологий.

Аналитические подходы к обработке информации о каждом инфекционном больном, включая клинические и эпидемиологические сведения, в настоящее время широко применяют за рубежом. Чаще других используют информационные системы GermAlert, GermWatcher, Gideon, RODS, EpidInfo [207, 228]. Наиболее эффективными с точки зрения решаемых задач являются программные продукты Gideon и EpidInfo, которые предназначены для мониторинга инфекционной заболеваемости и анализа полученных данных. Однако эти системы не могут эффективно использоваться в отечественном здравоохранении, поскольку построены с учетом организационной структуры здравоохранения, учетно-отчетной документации, особенностей медицинского обслуживания населения конкретных стран [10]. Исходя из принципа избыточности (внесение максимально-возможного количества информации о случаях инфекционных

заболеваний, даже имеющих минимум симптомов характерных для ЭВНИ, а также максимально подробный эпидемиологический анамнез), было разработано задание на проектирование и создан алгоритм работы информационной системы эпидемиологической диагностики распространения ЭВНИ (ИСЭД ЭВНИ). Особенность данной системы заключалась в аналитической обработке загруженных данных с элементами машинного обучения, которая в соответствии с заданными параметрами проведёт дифференциальную диагностику ЭВНИ с высокой чувствительностью, высокой прогностической ценностью и специфичностью, нарастающую по мере накопления данных. Участниками системы могут быть медицинские учреждения, управления Роспотребнадзора, Центры гигиены и эпидемиологии, Научно-методические центры по изучению энтеровирусных инфекций. Оператором по обработке персональных данных лиц, информация о которых содержится в системе ИСЭД ЭВНИ, является Управление Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации. Событиями, с которых начинается ввод данных в информационную систему, являются случаи выявления инфекционного заболевания у нового пациента с подозрением на ЭВНИ и выявление нового контактного лица в очаге. Как известно, существуют два варианта выявления пациентов с инфекционным заболеванием – активное и пассивное.

Активное выявление производит должностное лицо, уполномоченное проводить эпидемиологическое расследование или осуществлять выявление случая в эпидемическом очаге. Эпидемиологическое расследование осуществляют с использованием мобильного автоматизированного рабочего места эпидемиолога («АРМ эпидемиолога»). При этом «АРМ эпидемиолога» работает не только как инструмент для занесения данных, но и как справочная система, предоставляющая информацию из ИСЭД ЭВНИ о лицах, имевших эпидемиологическую связь с больным и/или вирусовыделителем.

Пассивное выявление происходит при самостоятельном обращении граждан за медицинской помощью. Новых пациентов с симптомами ЭВНИ регистрируют в ИСЭД ЭВНИ сотрудники первичных медицинских организаций,

неподтверждённые контактные – при сборе эпидемиологического анамнеза. В медицинской организации в систему ИСЭД ЭВНИ («АРМ инфекциониста») заносят сведения о «пациентах» и «неподтверждённых контактных». В случае отсутствия в медицинской организации «АРМ инфекциониста» сведения заносят в расширенном формате в экстренное донесение о случае инфекционного заболевания, направляют в территориальный центр гигиены и эпидемиологии, где они вводятся оператором в ИСЭД ЭВИ с использованием АРМ эпидемиолога. После ввода в ИСЭД ЭВНИ стандартного набора первичной информации о случае ЭВНИ эпидемиологом производится поиск эпидемиологических связей нового пациента или контактного лица с зарегистрированными ранее больным ЭВНИ и вирусовыделителями. Для определения веса (силы значимости) таких связей, вероятности заражения пациента или контактного НПЭВ используется аналитическая математическая модель. Временной период охвата значимых событий для пациентов составляет продолжительность максимального инкубационного периода. Для контактных лиц временной период охватывает два максимальных инкубационных периода. Рассчитанное множество весов эпидемиологических связей каждого случая подвергается дальнейшей программной обработке.

Вторым направлением эпидемиологического анализа является сопоставление клинической картины заболевания у пациента с симптомокомплексом заболевания и данными его лабораторного и инструментального обследования, с различной вероятностью, указывающих на конкретного возбудителя. В качестве аналитических математических моделей используют принцип логистической регрессии, реализованный на основе многослойной нейронной сети, прошедшей обучение на основании накопленных в ИСЭД ЭВНИ структурированных и верифицированных сведений. Обучение регрессионной модели проводят по мере накопления данных в ИСЭД ЭВНИ.

Результатами эпидемиологической диагностики с использованием представленной модели информационной системы является определение границ очага на местности с использованием географических координат для каждого

зарегистрированного эпидемиологически значимого события. Эти границы могут динамически меняться по мере поступления новой информации. В пределах эпидемического очага отмечают элементы социальной инфраструктуры и проводят ранжирование долей эпидемиологических связей с максимальной вероятностью реализации путей передачи возбудителя, что формирует рейтинг значимости таких объектов (факторов передачи инфекции). Возможность получения таких сведений на раннем этапе крайне важна для определения ориентировочного числа лиц, вовлеченных в эпидемический процесс, и выполнения необходимого набора противоэпидемических мероприятий. Мониторинг случаев, связанных с каждым эпидемическим очагом, позволит своевременно информировать органы управления от микрорайона до субъекта Российской Федерации о сложившейся эпидемиологической обстановке по ЭВНИ с наглядными данными в виде интерактивной инфографики. Данная информация позволит обосновать управленческие решения в отношении объектов социальной инфраструктуры (провести их адресно и с минимальными экономическими затратами) а также повысить эффективность противоэпидемических и профилактических мероприятий.

В силу отсутствия средств специфической профилактики ЭВНИ, определяющую роль в предотвращении распространения этой инфекции на современном этапе, отводят неспецифической профилактике. К перспективным направлениям в этой области научных исследований относят разработку высокоэффективных средств и способов дезинфекции и антисептики и препаратов из органических и химических соединений для элиминационной терапии.

Еще в середине XX века проводились активные работы по изучению антибактериального и противовирусного эффекта экстрактов и вытяжек из растений. Сегодня в мире для этих целей разработаны и применяются средства на основе растительного сырья в бытовой химии. Они экологичны, безопасны для человека, обладают пролонгированным эффектом, однако, как правило, недостаточно эффективны в отношении возбудителей инфекционных заболеваний. Подбор растительных субстанций из сырья отечественного

производства с дезинфицирующим (антисептическим) эффектом в отношении энтеровирусов определил ход наших дальнейших исследований. Из 17 выбранных претендентов (чистотел, тысячелистник, подорожник, череда, шалфей, календула, калина, эвкалипт, ромашка, чабрец, розмарин, хвощ полевой, пихта, ель, можжевельник, сосна, лаванда), было приготовлено 24 субстрата. Проведена оценка бактерицидной активности рабочих и готовых к применению 3 % растворов водно-глицериновых (14 наименований) и 3 % растворов пропилен-гликолевых (10 наименований) экстрактов с их последующим тестированием на вакцинном штамме полиовируса Sabin (LSc-2ab). В ходе исследований с тест-штаммом E.Coli (1257) в группе водно-глицериновых экстрактов (14 образцов) лишь в двух случаях наблюдался высокий бактерицидный эффект (100 %). Это 3 % экстракт Пихты (100 %) и 3 % экстракт Ели. Пропилен-гликолевые субстраты растений (10 образцов) не показали высокой бактерицидной активности (менее 75 %). Таким образом, из 24 претендентов были отобраны только две субстанции – 3 % водно-глицериновый экстракт Пихты (*Abies*) и 3 % водно-глицериновый экстракт Ели (*Picea*). При времени экспозиции 15 – 30 минут оба тестируемых экстракта показали одинаково высокую вирулицидную активность – 100 %. Это позволило рекомендовать эти две субстанции в качестве кандидатов для разработки противовирусных антисептических средств.

Интенсивное развитие высоких технологий наряду с традиционными способами химической дезинфекции (протирание и орошение поверхностей объектов внешней среды), привело к широкому использованию аэрозольной дезинфекции [2, 71]. Из практики известно, что чаще дезинфекция систем приточно-вытяжной вентиляции проводится с использованием генераторов холодного тумана (PRO ULV 1035 и PulsfogTurbo ULV). К факторам, затрудняющим качественное и безопасное проведение обработки с участием такого оборудования, относят трудоемкость и опасность эксплуатации при работе операторов на высоте 3-4 м с использованием опорных конструкций (лестницы, стремянки), а также образование направленного потока частиц размерами более 0,5 мкм (в т.ч. быстро оседающих крупнодисперсных частиц более 25 мкм) с

большой кинетической энергией, что не позволяет достигнуть равномерного распределения дезинфицирующего средства на внутренней поверхности воздуховодов. Известно, что для получения аэрозолей в настоящее время используют как простое (гидропульт), так и высокотехнологичное (аэрозольные генераторы с дистанционным управлением) оборудование. Размеры капель генерируемого аэрозоля при этом, могут существенно изменяться: от высокодисперсных размерами от 0,5 до 5 мкм до грубодисперсных - более 100 мкм. В условиях интенсивного внедрения в работу аэрозольных генераторов и большого разнообразия дезинфицирующих средств возникает сложная задача их выбора с целью получения максимально эффективного результата. В связи с этим, был испытан комплект оборудования генератора аэрозоля на стенде системы вентиляции, оборудованной технологическими отверстиями и плотно прилегающими к ним инспекционными люками. В комплект оборудования генератора аэрозоля производительностью 30 мл в минуту входили компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод длиной 5 м, малярный пистолет с форсункой, генерирующий аэрозоль размером 5-25 мкм. В качестве дезинфицирующего средства использовали препарат «Дезаргент». Для диспергирования использовали воздух, подаваемый от компрессора на 6 атм.; подачу воздуха к пистолету с форсункой осуществляли через гибкий спиральный воздуховод (длиной 5 м); аэрозоль дезинфицирующего средства получали посредством форсунки, сконструированной под дисперсность 5-25 мкм. Использование представленного комплекта оборудования позволило получить новый технический результат, с минимальными объемами дезинфицирующих средства (25 мл/м²), значительным облегчением труда дезинфекторов (к месту дезинфекции доставлялся готовый аэрозоль, а не емкость с дезинфицирующим раствором) и улучшением качества дезинфекции за счет равномерного распределения дезинфицирующего средства по внутренней поверхности воздуховода системы вентиляции. При данном способе проведения дезинфекционной обработки себестоимость одного исследования (1 час аэрозолирования) составила 5,00 руб., что ниже других способов в 1,42 – 130,0

раз. Преимуществом представленного способа явилась его хорошая воспроизводимость. Использование данного прибора и способа дезинфекции внутренних поверхностей воздуховодов позволит обеспечить оперативность, эффективность и малозатратность дезинфекционных обработок в очагах инфекционных заболеваний. Прежде всего, разработанный метод может быть весьма эффективен в местах массового скопления людей, в современных высотных зданиях и спортивных сооружениях.

Известно, что одним из перспективных направлений неспецифической профилактики считают элиминационную терапию. Она усиливает мукоцилиарную функцию эпителия, минимизирует возможность адгезии возбудителей. О влиянии некоторых органических соединений на рецепторную специфичность НПЭВ было известно давно [49, 123].

Так, с помощью двух селекционированных клонов эховируса E11, использовавших различные первичные клеточные рецепторы на перевиваемой культуре клеток RD: рецептор DAF1 (CD55) для гемагглютинирующего варианта ЕСНО-11 и неидентифицированный клеточный рецептор для негемагглютинирующего варианта, Новоселов А.В. (1994 г.) изучили влияние антибиотика туникамицин на гемагглютинирующие свойства вируса, в т.ч. с целью познания химической природы гемагглютинина. Автором установлено, что туникамицин в субтоксических концентрациях (11 мкг/мл и менее) не снижает гемагглютинирующую способность ЕСНО-11. Однако, более высокие концентрации антибиотика приводили к морфологическим признакам цитотоксического действия препарата в течение периода, необходимого для репродукции вируса [43]. В этой связи было изучено влияние гетероциклического органического соединения роданин и фунгицидного препарата нистатин на патогенный потенциал возбудителей ЭВНИ. В качестве экспериментальной модели использованы два аналогичных клона ЕСНО-11 – гемагглютинирующий вариант с рецептором *daf*⁺ (клон 431-1) и негемагглютинирующий вариант *daf*⁻ (клон 431-2), перевиваемая культура клеток RD (клетки рабдомиосаркомы человека) из коллекции микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ЕНИИВИ

Роспотребнадзора. Цель работы заключалась в изучении влияния роданина и нистатина на форму графиков инфекционной активности двух селекционированных ранее клонов ЕСНО-11 клон 431-1 (daf+) и клон 431-2 (daf-) в одиночных циклах репродукции. Идентичность клонов была проверена методом прямого секвенирования структурной части генома, инфекционная активность методом бляшек под агаровым покрытием. В ходе исследований выявлены достоверные отличия между циклами репродукции гемагглютинирующего и негемагглютинирующего клонов вируса ЕСНО-11 по разности величин инфекционной активности в присутствии роданина во временном интервале с 30 по 210 мин. Роданин имел более выраженное ингибирующее действие на депротеинизацию гемагглютинирующего клонa daf+ (431-1), чем негемагглютинирующего daf- (431-6). Анализ графиков динамики численности вирусной популяции в эксперименте по определению инфекционной активности в одиночном цикле репродукции клонов 431-1 и 431-2 в культуре клеток RD без нистатина и в присутствии нистатина, позволил установить, что ингибирующий эффект нистатина на репродукцию daf+ клонa 431-1 связан с задержкой интернализации, с пониженной интенсивностью депротеинизации и с пониженной эффективностью синтеза новых вирионов. Таким образом, результаты эксперимента позволили сделать вывод о наличии ингибирующих свойств роданина и нистатина на цикл репродукции наиболее вирулентного, гемагглютинирующего (daf+) клонa энтеровируса ЕСНО-11, что дает перспективы целенаправленного создания высокоэффективных средств неспецифической профилактики для элиминации НПЭВ из входных ворот инфекции. Это имеет бесспорное государственное значение в связи с глобальными вызовами и угрозами человечеству: появляющимися и вновь возвращающимися инфекциями и ростом антимикробной резистентности.

Таким образом, итогом представленной диссертационной работы явилась новая концепция совершенствования эпидемиологического надзора и контроля ЭВНИ, которая предусматривает:

- актуализацию ее информационной системы, направленную на приближение регистрируемой заболеваемости к истинной (эпидемиологический мониторинг) и повышение информативности лабораторных исследований на основе включения в перечень обследуемых объектов более информативного биологического материала и применения современных молекулярно-генетических и вирусологических методов исследования с определением значимости и методологии их использования (микробиологический мониторинг);

- повышение качества эпидемиологической диагностики на популяционном уровне (обоснование использования математических моделей при оценке проявлений эпидемического процесса в многолетней динамике, аналитических эпидемиологических исследований при оценке пространственной характеристики эпидемического процесса, результатов эпидемиологического и микробиологического мониторинга для прогнозирования этиологии ЭВМ и эпидемической ситуации по ЭВНИ) и организменном уровне (внедрение информационных технологий в методику эпидемиологического обследования очагов);

- оптимизацию предэпидемической диагностики – разработку предвестников осложнения эпидемической ситуации;

- совершенствование средств и способов неспецифической профилактики ЭВНИ (эпидемиологический контроль), включая экспериментальное обоснование использования новых кандидатов растительного происхождения для разработки дезинфицирующих средств и антисептиков, разработку нового способа аэрозольной дезинфекции и экспериментальное обоснование применения органических и химических препаратов для элиминации НПЭВ из входных ворот инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Заболеваемость энтеровирусной (неполио) инфекцией в РФ в 2006-2019 гг. характеризовалась 2-мя разнонаправленными трендами (2006-2009 гг. и 2010-2019 гг.) имела четырехлетнюю периодичность, выраженную летнее-осеннюю сезонность (коэффициент сезонности – 82 %) и высокую очаговость (среднемноголетний показатель общей очаговости – 20,0). Группой риска по заболеваемости и развитию тяжелых клинических форм инфекции являются дети. Относительный риск возникновения у детей энтеровирусного менингита в 58,0 раз выше, чем у взрослых. Эпидемический процесс энтеровирусной (неполио) инфекции в этот период характеризовался неуправляемостью и неблагоприятным прогнозом.

2. Анализ проявлений эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в многолетней динамике при ее неравномерном распределении по годам установил целесообразность использования математических моделей, аппроксимированных на отдельные временные отрезки. Среднемноголетний уровень заболеваемости за период наблюдения 2010-2019 гг. составил $8,09\text{‰}$, среднегодовой темп прироста –17,7 %, угол наклона линейного тренда – 50° . Показатели, характеризующие выраженность тенденции в многолетней динамике заболеваемости, рассчитанные на основе математического моделирования, достоверно отличались от таковых, полученных путем расчета средних величин ($\chi=11,08$, d.f.=1, $p=0,0009$).

3. Сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем заболеваемости выявил прогностические признаки эпидемического неблагополучия: ранее вовлечение в эпидемический процесс детского населения, на 1-2 месяца опережающее взрослых; 2-х летнюю периодичность заболеваемости энтеровирусным менингитом и высокую долю заболевших лиц в эпидемических очагах с числом случаев 3 и более. Территории, характеризующиеся низким

уровнем заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией и высоким уровнем заболеваемости энтеровирусным менингитом, могут быть расценены как территории «мнимого эпидемического благополучия».

4. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции определяется, преимущественно, серотипами неполиомиелитных энтеровирусов, формирующих очаги с числом случаев 3 и более (87,4 %). Неблагоприятным прогностическим признаком развития эпидемической ситуации является смена ведущих возбудителей в течение одного эпидемического сезона. При доминировании в этиологической структуре энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях Уральского Федерального округа и Западной Сибири двух серотипов - *Coxsackievirus A6* и *Echovirus E30*, наблюдаются значительные отличия в этиологическом пейзаже в разрезе отдельных клинических форм и возрастных групп. При менингитах и энтеровирусных ОРВИ чаще обнаруживают *Echovirus E30* (54,2 % и 25,6 %), при герпангинах - *Coxsackievirus A6* (39,0 %) и *Coxsackievirus A16* (25,6 %), при фарингитах - *Coxsackievirus A6* (37,1 %) и *Coxsackievirus A21* (25,7 %), при стоматитах, экзантемах и сочетанных формах *Coxsackievirus A6* (89,2 %, 60,5 %, 71,8 %). Преобладающими серотипами энтеровирусов у детей в возрастной группе до 3-х лет являются *Coxsackievirus A6*, от 4-х до 6-ти лет - *Echovirus E30* и *Coxsackievirus A6*, от 7-ми до 15-ти лет - *Echovirus E30*, у взрослых с 18-ти лет и старше - *Echovirus E30* и *Coxsackievirus A6*.

5. Индикаторной группой населения для прогнозирования этиологии энтеровирусного менингита являются дети из группы «здоровых» носителей в возрасте от 3-х до 6-ти лет. При общем разнообразии неполиомиелитных энтеровирусов в кишечнике «здоровых» детей (более 35 серотипов), имеет место более, чем в 97,9 % случаев совпадения серотипов с возбудителями энтеровирусного менингита, относящихся к ЕСНО и *Coxsackievirus B*, что позволит прогнозировать этиологию энтеровирусного менингита на определенной территории при условии динамического наблюдения за спектром вирусносительства у детей индикаторной группы (не менее, чем за пять лет).

Исследование сточных вод в качестве объектов внешней среды имеет недостаточную информативность в связи с низким уровнем выделения из воды неполиомиелитных энтеровирусов (4,3 %).

6. Разработана информационная система эпидемиологической диагностики энтеровирусной (неполио) инфекции в эпидемических очагах (ИСЭД ЭВНИ), позволяющая в машинном режиме провести дифференциальную диагностику, установить пространственные и временные границы эпидемического очага, источники возбудителя инфекции, пути и факторы, способствующие распространению заболевания. Программный продукт характеризуется высокой чувствительностью, специфичностью и прогностической ценностью.

7. Перспективными кандидатами в качестве средств неспецифической профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции являются растительные субстанции - 3 % водно-глицериновый экстракт пихты (*Abies*) и 3 % водно-глицериновый экстракт ели (*Picea*), характеризующиеся высокой вирулицидной активностью (100 %), а также производные роданина и нистатина, оказывающие ингибирующий эффект на цикл репродукции вирулентного, гемагглютинирующего (*daf+*) клона энтеровируса ЕСНО-11. Разработан новый способ аэрозольной дезинфекции воздуховодов помещений с использованием прибора, генерирующего аэрозоль с размером частиц 5-25 мкм, который повышает эффективность дезинфекции систем вентиляции при низкой себестоимости обработки (в 1,42 – 130,0 раз ниже существующих методов).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Внедрить в систему ретроспективного эпидемиологического анализа заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией при ее неравномерном распределении по годам и разнонаправленными трендами математические модели прогнозирования, для повышения точности краткосрочных и долгосрочных прогнозов развития эпидемического процесса;

2. В целях совершенствования эпидемиологической диагностики энтеровирусной (неполио) инфекции внедрить в систему эпидемиологического мониторинга дифференцированную оценку пространственной характеристики эпидемического процесса с ранжированием территорий по уровню заболеваемости;

3. В целях прогнозирования этиологической структуры энтеровирусного менингита внедрить в информационную подсистему эпидемиологического надзора за ЭВНИ исследование биологических материалов (проб фекалий) от «здоровых» носителей (дети от 3 до 6 лет) с использованием нового способа секвенирования энтеровирусов по участку генома VP1 и VP2 методом "полувложенной" ПЦР;

4. Использовать нуклеотидные последовательности неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от больных ЭВНИ и депонированных в международную базу данных GenBank, для построения филогенетических связей вирусных изолятов, циркулирующих на территории РФ и за ее пределами;

5. В целях совершенствования эпидемиологического обследования эпидемических очагов ЭВНИ, в части определения пространственных и временных границ эпидемического очага, внедрить информационную систему эпидемиологической диагностики (ИСЭД ЭВНИ);

6. Рекомендовать к использованию эффективный и экономически значимый способ аэрозольной дезинфекции воздухопроводов для обеспечения

эпидемиологической безопасности воздушной среды в эпидемических очагах энтеровирусной (неполио) инфекции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. На основе разработанной методологии прогнозирования этиологии энтеровирусного менингита организовать научные исследования по определению индикаторных групп населения и биологических материалов, которые могут быть использованы в рамках молекулярно-генетического мониторинга для прогнозирования этиологии других клинических форм энтеровирусной (неполио) инфекции;

2. Полученные результаты о чувствительности диплоидных клеточных культур животного происхождения к штаммам энтеровирусов открывают перспективы их дальнейшего использования и поиска новых чувствительных клеточных культур для индикации и идентификации актуальных штаммов энтеровирусов;

3. Осуществить дальнейшее совершенствование информационной системы эпидемиологической диагностики энтеровирусной (неполио) инфекции (ИСЭД ЭВНИ) для обследования эпидемических очагов на основе разработки безусловных и вероятных стандартных определений случая;

4. Перспективным направлением исследований является продолжение изучения влияния ряда химических и биологических субстанций на цикл репродукции вирулентных клонов отдельных серологических групп и генетических вариантов энтеровирусов с целью создания высокоэффективных таргетированных лекарственных и профилактических средств неспецифической профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АРМ – автоматизированные рабочие места
- АТР – Азиатско-Тихоокеанский регион
- БДУ – без дополнительного уточнения (в МКБ-10)
- БОЕ – бляшкообразующие единицы
- ВНС – синдром внезапной неожиданной смерти
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДС – дезинфицирующее средство
- ЕНИИВИ – Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций
- ЕНМЦ – Урало-Сибирский научно-методический центр по изучению энтеровирусной инфекции на базе ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора
- ЕС/ЕЭТ – Европейский Союз - Европейская экономическая территория
- ИСЭД ЭВНИ – информационная система эпидемиологической диагностики распространения энтеровирусной (неполио) инфекции
- кДНК – комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота, синтезированная на матрице РНК в реакции, катализируемой обратной транскриптазой
- МЗ РФ – Министерство здравоохранения Российской Федерации
- МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра
- МКИ – межквартильный интервал
- МУ – методические указания
- МУК – методические указания
- н.о. – нуклеотидные основания
- нАт – нейтрализующие антитела
- НИР – научно-исследовательская работа
- НКДР – не классифицируемый в других рубриках (в МКБ-10)

НМЦ – научно-методический центр

НПЭВ – неполиомиелитные энтеровирусы

НТР – нетранслируемый регион

НЭВ – неполиомиелитная энтеровирусная диарея

ОВП – острый вялый паралич

ОГК – острый геморрагический конъюнктивит

ОПВ – оральная полиовакцина

ОТ-ПЦР – полимеразно-цепная реакция с обратной транскрипцией

ОЭ – острая энцефалопатия

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПВ – полиовирусы

ПВВП – полиовирус вакцинного происхождения

ПДК – предельно допустимая концентрация

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

РФ – Российская Федерация

СМЖ – спинномозговая жидкость

СМУ – средний многолетний уровень

СНИЛС – страховой номер индивидуального лицевого счёта

СОСВ – станция очистки сточных вод

СП – санитарные правила

США – Соединённые Штаты Америки

ТЦД50 – тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50 % клеток

монослоя

ФБУН – Федеральное бюджетное учреждение науки

ФГБНУ – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

ФИАС – Федеральная информационная адресная система

ФИО – фамилия имя отчество

ФИПС – Федеральный институт промышленной собственности

ФСТЭК – Федеральная служба по техническому и экспортному контролю

ЦОД – центр обработки данных

ЦПД – цитопатогенное действие

ЧАС – четвертичные аммониевые соединения

ЭВМ – энтеровирусный менингит

ЭВНИ – энтеровирусная (неполио) инфекция

HFMD – Hand, foot, and mouth disease (Синдром «рука-нога-рот», ящуроподобное заболевание, энтеровирусная экзантема, энтеровирусный стоматит, герпангина)

HL7 – Health Level 7 (Седьмой уровень) – стандарт обмена, управления и интеграции электронной медицинской информации.

IgG – иммуноглобулины класса «G»

IgM – иммуноглобулины класса «M»

IQR – interquartile range (межквартильный интервал)

IRES – Internal Ribosomal Entry Site (внутренний сайт связывания рибосом)

NCBI – National Center for Biotechnology Information (Национальный центр биотехнологической информации)

NGS – Next generation sequencing (секвенирование нового поколения)

pH – водородный показатель

RD – клеточные культуры рабдомиосаркомы человека

T1D – клинический сахарный диабет I типа

UTR – untranslated regions (нетранслируемый регион)

σ – среднее квадратическое отклонение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимкин, В.Г. Методические рекомендации по применению метода аэрозольной дезинфекции в медицинских организациях. МР 3.5. 1.0103-15 / В.Г. Акимкин, Н.В. Шестопапов, Л.С. Федорова и др. // М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2013 – С. 8.
2. Акимкин, В.Г. Обеззараживание воздуха в медицинских организациях: тенденции развития / В.Г. Акимкин, А.В. Наголкин, Е.В. Володина и др. // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 1, № 6. – С. 44-49.
3. Акимкин, В.Г. Перспективные направления научных исследований в области неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / В.Г. Акимкин // Здоровье населения и среда обитания. – 2014, № 6 (255). – С. 26.
4. Акимкин, В.Г. Совершенствование системы дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в лечебно-профилактических организациях / В.Г. Акимкин, Н.В. Шестопапов, Л.Г. Пантелеева и др. // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 11, № S1. – С. 17-18.
5. Амвросьева, Т.В. Роль воды как природного резервуара энтеровирусных инфекций / Т.В. Амвросьева, З.Ф. Богущ, В.Л. Зуева // Вода: гигиена и экология. – 2013, № 2. – С. 20-34.
6. Аршавский, И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития: Основы негэнтропийной теории онтогенеза / И.А. Аршавский. – Наука, 1982. – 496 с.
7. Беседина, Л.Г. Особенности циркуляции энтеровирусов в г. Екатеринбурге (1992-2005) / Л.Г. Беседина, Н.Н. Сбитнева, Я.Б. Бейкин и др. // Уральский мед. журнал. – 2006, № 11. – С. 19-22.
8. Бичурина, М.А. Групповые заболевания энтеровирусной инфекцией, обусловленной вирусами Коксаки А16, на северо-западе России / М.А. Бичурина, Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и

иммунобиологии. – 2014, № 2.

9. Бичурина, М.А. Роль энтеровируса ЕСНО 30 в этиологии энтеровирусной инфекции на северо-западе России в 2013 г / М.А. Бичурина, Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына и др. // Журнал инфектологии. – 2014. – Т. 6, № 3. – С. 84-91.

10. Богомолов, А.В. Информационные технологии сбора и обработки информации при установлении детерминант эпидемических процессов / А.В. Богомолов, С.С. Чикова, Т.В. Зуева // Анализ риска здоровью. – 2019, № 3. – С. 144-153.

11. Брико, Н.И. Энтеровирусные неполиомиелитные инфекции / Н.И. Брико // Медсестра. – 2006. – Т. 7 – С. 2-10.

12. Ворошилова, М.К. Энтеровирусные инфекции человека / М.К. Ворошилова. – Медицина, 1979. – 360 с.

13. Вотчинский, В.М. Способ дезинфекции приточных вентиляционных систем пат. : 2257228 Рос. Федерация / В.М. Вотчинский, И.Ф. Салимов, А.Н. Харитонов. – Российская Федерация: Заявитель и патентообладатель: Вотчинский Владимир Михайлович (RU), Салимов Ирек Фаизович (RU), Харитонов Александр Николаевич (RU), 2005.

14. Голицына, Л.Н. Вирус Коксаки А6 в Российской Федерации в 2014 году / Л.Н. Голицына, В.В. Зверев, Н.А. Новикова и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015, № 28. – С. 12-20.

15. Голицына, Л.Н. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО 9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007-2009 гг. / Л.Н. Голицына, Е.И. Ефимов, Н.А. Новикова и др. // Вопросы вирусологии. – 2011. – Т. 56, № 6. – С. 37-42.

16. Голицына, Л.Н. Энтеровирусная инфекция в Социалистической Республике Вьетнам / Л.Н. Голицына, Н.А. Новикова, М.А. Бичурина и др. // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 3-4. – С. 467-475.

17. Голицына, Л.Н. Эпидемические варианты неполиомиелитных энтеровирусов в России / Л.Н. Голицына, В.В. Зверев, О.В. Парфенова и др. //

Медицинский альманах. – 2015, № 5 (40). – С. 136-140.

18. Голицына, Л.Н. Этиологическая структура энтеровирусных инфекций в Российской Федерации в 2017–2018 гг. / Л.Н. Голицына, Н.А. Новикова, Е.И. Ефимов и др. // Здоровье населения и среда обитания. – 2019. – Т. 317, № 8. – С. 30-38.

19. Голицына, Л.Н. Способ обнаружения и дифференциации РНК энтеровирусов пат. : 2189396 Рос. Федерация / Л.Н. Голицына, М.А. Бичурина. – Российская Федерация: Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное учреждение науки и здравоохранения Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной, 2002.

20. Голубев, Д.Б. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии / Д.Б. Голубев, А.А. Соминина, М.Н. Медведева. – М.: Медицина, 1976. – 224 с.

21. Демина, А.В. Энтеровирусы. Часть 1: история открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология / А.В. Демина, Н.А. Маркович, С.В. Нетесов // Сибирский научный медицинский журнал. – 2008, № 1. – С. 92-100.

22. Домашенко, О.Н. Энтеровирусная инфекция: новая классификация вирусов, клинические формы, перспективы исследования / О.Н. Домашенко, В.А. Гридасов // Университетская клиника. – 2018, № 2 (27). – С. 75-81.

23. Ежлова, Е.Б. Организация и проведение дезинфекционных мероприятий на различных объектах в период проведения массовых мероприятий. МР 3.5.0071-13 / Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, И.С. Тартаковский и др. // М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2013 – С. 7-8.

24. Жевандрова, В.И. Дальнейшие наблюдения по кишечному носительству полиовирусов и неполиомиелитных цитопатогенных энтеровирусов среди здоровых детей в г. Москве: сб. науч. тр / В.И. Жевандрова, М.К. Ворошилова, Л.А. Грачева // Труды ИПВЭ АМН СССР. Полиомиелит и другие энтеровирусные инфекции. М.: Медицина. – 1965. – Т. 6 – С. 220-229.

25. Иванова, О.Е. Социально-экономическая значимость энтеровирусной

инфекции и ее роль в структуре инфекционной патологии в мире / О.Е. Иванова, А.Н. Лукашев, Л.В. Худякова, Н.С. Морозова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010, № 5. – С. 113-120.

26. Канаева, О.И. Энтеровирусная инфекция: многообразие возбудителей и клинических форм / О.И. Канаева // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 1., С. 27–36

27. Козлов, В.Г. Энтеровирусная (неполио) инфекция и проблемы ее диагностики / В.Г. Козлов, Ю.Х. Хапчаев, А.А. Ишмухаметов // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2016, № 4. – С. 44-52.

28. Козловская, О.В. Эпидемиологические, клинические и диагностические особенности энтеровирусной инфекции у детей и взрослых / О.В. Козловская, Л.Л. Катанахова, Н.Н. Камка и др. // Вестник СурГУ. Медицина. – 2018, № 2. – С. 56-60.

29. Курбатов, С.В. Синтез и противовирусная активность биспироциклических производных роданина / С.В. Курбатов, В.В. Зарубаев, О.И. Киселев и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2014, № 5. – С. 1130.

30. Кучма, В.Р. Гигиена детей и подростков: учебник:[для медицинских вузов] / В.Р. Кучма. – ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 480 с.

31. Лазикова, Г.Ф. Энтеровирусные заболевания: клиника, лабораторная диагностика, эпидемиология, профилактика. МУ 3.1.1.2130-06. / Г.Ф. Лазикова, Е.Б. Ежлова, М.И. Михайлов и др. // М.: Бюллетень нормативных и методических документов госсанэпиднадзора. – 2006, № 4. – С. 18.

32. Литяева, Л.А. Клинико-эпидемиологические особенности групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией Коксаки А16 у детей / Л.А. Литяева, О.В. Ковалева, И.С. Якубович // Детские инфекции. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 50-53.

33. Ложкина, О.В. Новые кожные антисептики, заботящиеся о ваших руках / О.В. Ложкина, Е.И. Воробьева, А.Г. Савинов // Поликлиника. – 2008, № 1.

– С. 90.

34. Лукашев, А.Н. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 6-возбудителя вспышки серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. / А.Н. Лукашев, О.Е. Иванова, Т.П. Еремеева и др. // Вопросы вирусологии. – 2008. – Т. 53, № 1. – С. 16-21.

35. Лукашев, А.Н. Современные возможности и направления развития молекулярно-эпидемиологического мониторинга в надзоре за энтеровирусными инфекциями. Опыт Российской Федерации / А.Н. Лукашев, Л.Н. Голицына, Н.А. Новикова и др. // Инфекция и иммунитет. – 2018. – Т. 8, № 4. – С. 452-464.

36. Малышев, В.В. Современные мембранные технологии пробоподготовки воды и детекция вирусной контаминации водных объектов окружающей среды / В.В. Малышев, Т.А. Змеева // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2018. – №. S1. – С. 67-70.

37. Мартынова, Г.П. Энтеровирусная (неполио) инфекция у детей / Г.П. Мартынова // Сибирское медицинское обозрение. – 2014, № 3 (87). – С. 100-106.

38. Милихина, А.В. Эффективность ПЦР-диагностики энтеровирусной инфекции в период расшифровки в Ногайском районе, республика Дагестан / А.В. Милихина, М.М. Керимов, М.М. Курбанова // Молекулярная диагностика – 2017. Всероссийская науч. практ. конф.: материалы конф. / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [и др.]. – 2017. – С. 255-256.

39. Модестова, Н.В. Результаты вирусологического обследования населения Северного и Среднего Урала: сб. науч. тр. / Н.В. Модестова, Л.В. Власова, Н.В. Пацук и др. // Труды ИПВЭ АМН СССР. Полиомиелит и другие энтеровирусные инфекции. М.: Медицина. – 1970. – Т. 14 – С. 128-131.

40. Новикова, Н.А. Молекулярно-генетические исследования при мониторинге энтеровирусной инфекции. МР 4.4.0136-18 / Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына, Е.И. Ефимов и др. // М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2019 – С. 31.

41. Новикова, Н.А. Молекулярный мониторинг неполиомиелитных

энтеровирусов на европейской территории России в 2008-2011 гг / Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына, Е.И. Ефимов и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013, № 1. – С 75-78.

42. Новикова, Н.А. Энтеровирус D68: молекулярно-биологическая характеристика, особенности инфекции / Н.А. Новикова, В.В. Зверев // Журнал МедиАль. – 2019, № 2 (24). – С 40-54.

43. Новоселов, А.В. Генетический анализ гемагглютинирующих свойств энтеровирусов (на модели вируса ЕСНО 11): автореферат дисс. ... канд. мед. наук: 03.00.06 / А.В. Новоселов. – Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН-М., 1994. – 23 с.

44. Онищенко, Г.Г. Влияние экологических факторов на заболеваемость острыми кишечными инфекциями с преимущественно водным путем распространения возбудителей на территориях Приамурья / Г.Г. Онищенко, О.Е. Троценко, В.А. Отт и др. // Биосфера. – 2014. – Т. 6, № 1. – С. 77-88

45. Онищенко, Г.Г. Состояние и перспективы разработки вакцин для специфической профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции / Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – Т. 15, № 4 (89). – С. 74-82.

46. Ошерович, А.М. Некоторые результаты санитарно-вирусологического обследования объектов внешней среды / А.М. Ошерович, Г.С. Часовникова // Гигиена и санитария. – 1969, № 3. – С. 79-83.

47. Перескокова, М.А. Роль санитарно-вирусологических исследований сточных вод для оценки эпидситуации по энтеровирусным инфекциям / М.А. Перескокова, В.И. Резник, Л.А. Лебедева и др. // Дальневосточный журн. инфекц. патологии. – 2008, № 12. – С. 15-26.

48. Попова, А.Ю. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году. Государственный доклад. / А.Ю. Попова. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. – 254 с.

49. Резайкин, А.В. Структурно-функциональный анализ генетических

полиморфизмов вируса ECHO11, связанных с изменчивостью рецепторной специфичности: дисс. ... канд. мед. наук : 03.02.02 / А.В. Резайкин. – Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени МП Чумакова РАМН, 2014. – 120 с.

50. Резайкин, А.В. Филогенетический анализ неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших на территории г. Екатеринбурга в 2012–2016 гг. / А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, А.В. Устюжанин и др. // Инфекционные болезни. – 2017. – Т. 15, № S1. – С. 236.

51. Резник, В.И. Вирусологические исследования энтеровирусных инфекций в Хабаровском крае в 2009-2010 г. г / В.И. Резник, М.А. Перескокова, Л.А. Лебедева и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2011, № 19. – С. 13-17.

52. Романенкова, Н.И. Неполиомиелитные энтеровирусы, обусловившие подъем заболеваемости энтеровирусной инфекцией на ряде территорий России в 2016 г. / Н.И. Романенкова, Н.А. Новикова, Л.Н. Голицына и др. // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9, № 3. – С. 98-108.

53. Сапега, Е.Ю. Молекулярно-эпидемиологический анализ энтеровирусов, циркулирующих на территории Дальневосточного и Сибирского федеральных округов Российской Федерации, в том числе участвующих в возникновении очагов групповой заболеваемости. / Е.Ю. Сапега, Л.В. Бутакова, О.Е. Троценко и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2018, № 35. – С. 5-14.

54. Сапега, Е.Ю. Эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции в условиях паводка на территории Еврейской автономной области / Е.Ю. Сапега, Н.А. Новикова, Г.Г. Онищенко и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014, № 1. – С. 71-74.

55. Сергевнин, В.И. О связи сезонных подъемов заболеваемости населения энтеровирусной инфекцией и вирусным гепатитом А с авариями на водопроводных сетях / В.И. Сергевнин, М.Ю. Девятков, М.А. Тряслобова и др. // Санитарный врач. – 2018, № 3. – С. 39-42.

56. Сергевнин, В.И. Сравнительная оценка проявлений эпидемического процесса и ведущих факторов передачи возбудителей серозного менингита и герпетической ангины энтеровирусной этиологии / В.И. Сергевнин, М.Ю. Девятков, М.А. Трясолобова и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2018. – Т. 23, № 6. – С. 274-278

57. Сергеев, А.Г. Значение молекулярно-генетического мониторинга в оценке степени вирулентности и эпидемической значимости штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих среди населения / А.Г. Сергеев, Т.Э. Снитковская, А.В. Устюжанин и др. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2015, № 1. – С. 72-76.

58. Сергеев, А.Г. Молекулярно-генетический анализ энтеровирусов, выделенных от больных в 2008-2011 гг. на территории Уральского Федерального округа / А.Г. Сергеев, В.В. Романенко, Т.Э. Снитковская и др. // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1-2. – С. 539-540.

59. Сергеев, А.Г. Оценка эпидемиологической опасности штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих среди населения, по результатам молекулярно-генетического мониторинга / А.Г. Сергеев, А.В. Устюжанин, А.В. Алимов и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015, № 28. – С. 20-26.

60. Симованьян, Э. Клинико-лабораторная характеристика инфекции, вызванной энтеровирусом-71 / Э. Симованьян, В.Б. Денисенко, Л.Ф. Бовтало и др. // Детские инфекции. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 12-19

61. Солодовников, Ю.П. Содержание и последовательность профессиональных действий эпидемиолога при расследовании вспышек и эпидемий кишечных инфекций / Ю.П. Солодовников, А.В. Иваненко, Н.В. Ефремова и др. // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008, № 1. – С. 101-105.

62. Троценко, О.Е. Использование научного потенциала в международном сотрудничестве России и Китая по вопросам противодействия эпидемическому распространению энтеровирусных инфекций / О.Е. Троценко,

Е.Б. Ежлова, Е.Ю. Сапега и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015, № 28. – С. 6-12.

63. Троценко, О.Е. Организация молекулярно-эпидемиологического мониторинга энтеровирусных инфекций в Дальневосточном ФО РФ / О.Е. Троценко, А.Н. Лукашев, Е.Ю. Сапега и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2011, № 19. – С. 5-12.

64. Троценко, О.Е. Прогнозирование заболеваемости энтеровирусной инфекцией в субъектах Дальневосточного и Сибирского федеральных округов Российской Федерации на 2019 год / О.Е. Троценко, Е.Ю. Сапега, Л.В. Бутакова и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2019, № 36. – С. 16-22.

65. Троценко, О.Е. Прогнозирование проявлений эпидемического процесса энтеровирусной инфекции в Дальневосточном Федеральном округе Российской Федерации / О.Е. Троценко, Е.Ю. Сапега, Е.Б. Ежлова и др. // Здоровье населения и среда обитания. – 2015, № 10 (271). – С. 38-43.

66. Троценко, О.Е. Энтеровирусная инфекция: обзор ситуации в мире на современном этапе в условиях активизации миграционных процессов / О.Е. Троценко, Е.Ю. Сапега, Л.В. Бутакова // Здоровье населения и среда обитания. – 2018, № 4 (301). – С. 55-60.

67. Устюжанин, А.В. Молекулярно-генетический мониторинг носительства неполиомиелитных энтеровирусов в анализе и прогнозе уровня заболеваемости энтеровирусным менингитом в условиях мегаполиса : диссертация ... канд. мед. наук : 03.02.02 / А.В. Устюжанин. – ФГБУ Научно-исследовательский институт гриппа Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2017. – 150 с.

68. Устюжанин, А.В. Новые подходы в оценке эпидемической значимости штаммов неполиомиелитных энтеровирусов по данным молекулярно-генетического мониторинга их циркуляции на территории мегаполиса / А.В. Устюжанин, А.Г. Сергеев, А.В. Алимов и др. // Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями. – 2016. – С. 106-111.

69. Фадеев, Ф.А. Изменчивость рецепторной специфичности вируса ЕСНО 11 : дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.06 / Ф.А. Фадеев. – Науч.-исслед. ин-т вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, 2008. – 132 с.
70. Филатов, Н.Н. Методические рекомендации по организации контроля за очисткой и дезинфекцией систем вентиляции и кондиционирования воздуха. МосМР 3.5.1.006-04 / Н.Н. Филатов, Т.В. Гололобова, Л.И. Федорова и др. // Центр госсанэпиднадзора в г. Москве. – 2004 – С. 8-9.
71. Шестопапов, Н.В. Совершенствование методических подходов к управлению риском распространения инфекций с аэрозольным механизмом передачи возбудителя / Н.В. Шестопапов, Л.С. Федорова, А.Ю. Скопин и др. // Анализ риска здоровью. – 2019, № 1. – С. 84-92.
72. Шестопапов, Н.В. Совершенствование дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в системе мер неспецифической профилактики ИСМП / Н.В. Шестопапов, В.Г. Акимкин // Поликлиника. – 2014, № 6. – С. 21.
73. Abedi, G.R. Enterovirus and Parechovirus Surveillance - United States, 2014-2016. / G.R. Abedi, J.T. Watson, W.A. Nix et. al // MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report. – 2018. – Vol. 67, № 18. – P. 515-518.
74. Ahlbrecht, J. Cerebrospinal fluid features in adults with enteroviral nervous system infection / J. Ahlbrecht, L.K. Hillebrand, P. Schwenkenbecher et. al // International Journal of Infectious Diseases. – 2018. – Vol. 68 – P. 94-101.
75. Akhmadishina, L. V. Enterovirus A71 Meningoencephalitis Outbreak, Rostov-on-Don, Russia, 2013. / L. V Akhmadishina, M. V Govorukhina, E. V Kovalev et. al // Emerging infectious diseases. – 2015. – Vol. 21, № 8. – P. 1440-1443.
76. Anastasina, M. Human picornaviruses associated with neurological diseases and their neutralization by antibodies / M. Anastasina, A. Domanska, K. Palm et. al // Journal of General Virology. – 2017. – Vol. 98, № 6. – P. 1145-1158.
77. Andino, R. Poliovirus RNA synthesis utilizes an RNP complex formed around the 5'-end of viral RNA. / R. Andino, G.E. Rieckhof, P.L. Achacoso et. al // The EMBO Journal. – 1993. – Vol. 12, № 9. – P. 3587-3598.
78. Andriushkova, N.G. The role of the persistent enterovirus infection in

development of acute stroke. / N.G. Andriushkova, N.S. Turchyna, V.A. Poniatowski et. al // *Wiadomosci lekarskie* (Warsaw, Poland : 1960). – Vol. 70, № 2. – P. 187-191.

79. Anscombe, F.J. The examination and analysis of residuals / F.J. Anscombe, J.W. Tukey // *Technometrics*. – 1963. – Vol. 5, № 2. – P. 141-160.

80. Apisarnthanarak, A. Echovirus Type 11: Outbreak of Hand-Foot-and-Mouth Disease in a Thai Hospital Nursery / A. Apisarnthanarak, R. Kitphati, Y. Pongsuwann et. al // *Clinical Infectious Diseases*. – 2005. – Vol. 41, № 9. – P. 1361-1362.

81. Arnold, E. Implications of the picornavirus capsid structure for polyprotein processing. / E. Arnold, M. Luo, G. Vriend et. al // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1987. – Vol. 84, № 1. – P. 21-25.

82. Arola, A. Identification of enteroviruses in clinical specimens by competitive PCR followed by genetic typing using sequence analysis. / A. Arola, J. Santti, O. Ruuskanen et. al // *Journal of clinical microbiology*. – 1996. – Vol. 34, № 2. – P. 313-318.

83. Baggen, J. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. / J. Baggen, H.J. Thibaut, J.R.P.M. Strating et. al // *Nature reviews. Microbiology*. – 2018. – Vol. 16, № 6. – P. 368-381.

84. Bailly, J.-L. Nosocomial Transmission of Echovirus 30: Molecular Evidence by Phylogenetic Analysis of the VP1 Encoding Sequence / J.-L. Bailly, A. Béguet, M. Chambon et. al // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2000. – Vol. 38, № 8. – P. 2889-2892.

85. Bailly, J.-L. Phylogeography of circulating populations of human echovirus 30 over 50 years: Nucleotide polymorphism and signature of purifying selection in the VP1 capsid protein gene / J.-L. Bailly, A. Mirand, C. Henquell et. al // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2009. – Vol. 9, № 4. – P. 699-708.

86. Bal, A. Enterovirus D68 nosocomial outbreak in elderly people, France, 2014 / A. Bal, I. Schuffenecker, J.-S. Casalegno et. al // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2015. – Vol. 21, № 8. – P. e61-e62.

87. Barnadas, C. An enhanced Enterovirus surveillance system allows

identification and characterization of rare and emerging respiratory enteroviruses in Denmark, 2015–16 / C. Barnadas, S.E. Midgley, M.N. Skov et. al // *Journal of Clinical Virology*. – 2017. – Vol. 93 – P. 40-44.

88. Benschop, K.S. Increase in ECHOvirus 6 infections associated with neurological symptoms in the Netherlands, June to August 2016. / K.S. Benschop, F. Geeraedts, B. Beuvink et. al // *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. – 2016. – Vol. 21, № 39. – P. 1-6

89. Bisseux, M. Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a one-year experiment in central France, 2014 to 2015. / M. Bisseux, J. Colombet, A. Mirand et. al // *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. – 2018. – Vol. 23, № 7. – P. 1-11.

90. Blomberg, J. New enterovirus type associated with epidemic of aseptic meningitis and/or hand, foot, and mouth disease / J. Blomberg, E. Lycke, K. Ahlfors et. al // *The Lancet*. – 1974. – Vol. 304, № 7872. – P. 112.

91. Boussaid, I. The role of enterovirus infections in type 1 diabetes in Tunisia / I. Boussaid, A. Boumiza, R. Zemni et. al // *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. – 2017. – Vol. 30, № 12. – P. 1245-1250.

92. Brouwer, L. High frequency of Polio-like Enterovirus C strains with differential clustering of CVA-13 and EV-C99 subgenotypes in a cohort of Malawian children / L. Brouwer, S.M.G. van der Sanden, J.C.J. Calis et. al // *Archives of Virology*. – 2018. – Vol. 163, № 10. – P. 2645-2653.

93. Brown, B.A. Resolving ambiguities in genetic typing of human enterovirus species C clinical isolates and identification of enterovirus 96, 99 and 102 / B.A. Brown, K. Maher, M.R. Flemister et. al // *Journal of General Virology*. – 2009. – Vol. 90, № 7. – P. 1713-1723.

94. Butsch, R. Family outbreak of an infection with a recombinant Coxsackie A virus in eastern Switzerland / R. Butsch, C. Tapparel, P. Keller et. al // *Infection*. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 231-235.

95. Cann, A.J. Reversion to neurovirulence of the live-attenuated Sabin type 3 oral poliovirus vaccine / A.J. Cann, G. Stanway, P.J. Hughes et. al // *Nucleic Acids Research*. – 1984. – Vol. 12, № 20. – P. 7787-7792.
96. Cardoso, M.J. Molecular epidemiology of human enterovirus 71 strains and recent outbreaks in the Asia-Pacific region: comparative analysis of the VP1 and VP4 genes. / M.J. Cardoso, D. Perera, B.A. Brown et. al // *Emerging infectious diseases*. – 2003. – Vol. 9, № 4. – P. 461-468.
97. Caro, V. Molecular strategy for ‘serotyping’ of human enteroviruses The EMBL accession numbers of the sequences reported in this paper are AJ279151 to AJ279195. / V. Caro, S. Guillot, F. Delpeyroux et. al // *Journal of General Virology*. – 2001. – Vol. 82, № 1. – P. 79-91.
98. Carrion Martin, A.I. The emergence of enterovirus D68 in England in autumn 2014 and the necessity for reinforcing enterovirus respiratory screening / A.I. Carrion Martin, R.G. Pebody, K. Danis et. al // *Epidemiology and Infection*. – 2017. – Vol. 145, № 9. – P. 1855-1864.
99. Carson, S.D. Variations of Coxsackievirus B3 Capsid Primary Structure, Ligands, and Stability Are Selected for in a Coxsackievirus and Adenovirus Receptor-Limited Environment / S.D. Carson, N.M. Chapman, S. Hafenstein et. al // *Journal of Virology*. – 2011. – Vol. 85, № 7. – P. 3306-3314.
100. Casas, I. Molecular characterization of human enteroviruses in clinical samples: Comparison between VP2, VP1, and RNA polymerase regions using RT nested PCR assays and direct sequencing of products / I. Casas, G.F. Palacios, G. Trallero et. al // *Journal of Medical Virology*. – 2001. – Vol. 65, № 1. – P. 138-148.
101. Cerny, E. Nosocomial epidemic of echovirus type 7 in a neonatology department. / E. Cerny, C. Kind, T. Bächli // *Helvetica paediatrica acta*. – 1983. – Vol. 38, № 5-6. – P. 457-465.
102. Chambon, M. An outbreak due to Echovirus type 30 in a neonatal unit in France in 1997: Usefulness of PCR diagnosis / M. Chambon, J.L. Bailly, A. Béguet et. al // *Journal of Hospital Infection*. – 1999. – Vol. 43, № 1. – P. 63-68.
103. Chan, Y.-F. Phylogenetic designation of enterovirus 71 genotypes and

subgenotypes using complete genome sequences / Y.-F. Chan, I.-C. Sam, S. AbuBakar // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2010. – Vol. 10, № 3. – P. 404-412.

104. Chang, L.-Y. Risk factors of enterovirus 71 infection and associated hand, foot, and mouth disease/herpangina in children during an epidemic in Taiwan. / L.-Y. Chang, C.-C. King, K.-H. Hsu et. al // *Pediatrics*. – 2002. – Vol. 109, № 6. – P. 1-6.

105. Chatproedprai, S. Clinical and molecular characterization of hand-foot-andmouth disease in Thailand, 2008-2009 / S. Chatproedprai, A. Theanboonlers, S. Korkong et. al // *Jpn J Infect Dis*. – 2010. – Vol. 63, № 4. – P. 229-233.

106. Chen, J.-H. A neonatal echovirus 11 outbreak in an obstetric clinic. / J.-H. Chen, N.-C. Chiu, J.-H. Chang et. al // *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. – 2005. – Vol. 38, № 5. – P. 332-337.

107. Chen, P. Analysis of enterovirus types in patients with symptoms of aseptic meningitis in 2014 in Shandong, China / P. Chen, X. Lin, G. Liu et. al // *Virology*. – 2018. – Vol. 516 – P. 196-201.

108. Chen, P. Development of a pseudovirus based assay for measuring neutralizing antibodies against Coxsackievirus B5 / P. Chen, X. Wu, Y. Su et. al // *Journal of Virological Methods*. – 2017. – Vol. 246 – P. 21-26.

109. Chu, P.-Y. Transmission and Demographic Dynamics of Coxsackievirus B1 / P.-Y. Chu, Y.-C. Tyan, Y.-S. Chen et. al // *PLOS ONE*. – 2015. – Vol. 10, № 6. – P. 1-16.

110. Chua, K.B. Hand foot and mouth disease due to enterovirus 71 in Malaysia / K.B. Chua, A.R. Kasri // *Virologica Sinica*. – 2011. – Vol. 26, № 4. – P. 221-228.

111. Chumakov, M. Enterovirus 71 isolated from cases of epidemic poliomyelitis-like disease in Bulgaria / M. Chumakov, M. Voroshilova, L. Shindarov et. al // *Archives of Virology*. – 1979. – Vol. 60, № 3-4. – P. 329-340.

112. Circulation of non-polio enteroviruses in 24 EU and EEA countries between 2015 and 2017: a retrospective surveillance study / L. Bubba [et al.] // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 20, № 3. – P. 350-361.

113. Clementz, G.C. Nail Matrix Arrest Following Hand-Foot-Mouth Disease: A Report of Five Children / G.C. Clementz, A.J. Mancini // *Pediatric Dermatology*. –

2000. – Vol. 17, № 1. – P. 7-11.

114. Clusters of acute respiratory illness associated with human enterovirus 68 - Asia, Europe, and United States, 2008-2010 // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 2011. – Vol. 60, № 38. – P. 1301-1304.

115. Communicable disease surveillance and response systems: guide to monitoring and evaluating. – Lyon [France]: World Health Organization, 2006. – 90 p.

116. Corvest, V. Fatal case of enterovirus A71 hand, foot, and mouth disease infection. / V. Corvest, C. Archimbaud, A.-S. L'Honneur et. al // *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. – 2017. – Vol. 24, № 12. – P. 1253-1258.

117. Cramblett, H.G. Nosocomial infection with Echovirus type II in handicapped and premature infants. / H.G. Cramblett, R.E. Haynes, P.H. Azimi et. al // *Pediatrics*. – 1973. – Vol. 51, № 4. – P. 603-607.

118. Daboval, T. High C-Reactive Protein Levels During a Benign Neonatal Outbreak of Echovirus Type 7 / T. Daboval, E. Ferretti, R. Duperval // *American Journal of Perinatology*. – 2006. – Vol. 23, № 5. – P. 299-304.

119. Debray, A. Acute hemorrhagic edema of infancy associated with Coxsackie virus infection. / A. Debray, V. Ollier, A. Coutard et. al // *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. – 2017. – Vol. 24, № 12. – P. 1262-1266.

120. Delorme-Axford, E. Lipid Raft- and Src Family Kinase-Dependent Entry of Coxsackievirus B into Human Placental Trophoblasts / E. Delorme-Axford, Y. Sadovsky, C.B. Coyne // *Journal of Virology*. – 2013. – Vol. 87, № 15. – P. 8569-8581.

121. Donato, C. Genetic characterization of Enterovirus 71 strains circulating in Vietnam in 2012 / C. Donato, L.T. Hoi, N.T. Hoa et. al // *Virology*. – 2016. – Vol. 495 – P. 1-9.

122. Durga, R.C. Large-scale HFMD epidemics caused by Coxsackievirus A16 in Bangalore, India during 2013 and 2015 / R.C. Durga, N.R. Jagadeesh, M.P. Padmanabha et. al // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2017. – Vol. 55 – P. 228-235.

123. Eggers, H.J. Rhodanine: a selective inhibitor of the multiplication of echovirus 12. / H.J. Eggers, M.A. Koch, A. Furst et. al // *Science (New York, N.Y.)*. –

1970. – Vol. 167, № 3916. – P. 294-297.

124. Eggers, H.J. Selective inhibition of uncoating of echovirus 12 by rhodanine
A study on early virus-cell interactions / H.J. Eggers // *Virology*. – 1977. – Vol. 78, № 1. – P. 241-252.

125. Eisenhut, M. Fatal Coxsackie A9 Virus Infection During an Outbreak in a Neonatal Unit / M. Eisenhut, B. Algawi, T. Wreghitt et. al // *Journal of Infection*. – 2000. – Vol. 40, № 3. – P. 297-298.

126. El-Senousy, W.M. Coxsackievirus B4 as a Causative Agent of Diabetes Mellitus Type 1: Is There a Role of Inefficiently Treated Drinking Water and Sewage in Virus Spreading? / W.M. El-Senousy, A. Abdel-Moneim, M. Abdel-Latif et. al // *Food and Environmental Virology*. – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. 89-98.

127. Eurosurveillance editorial team. A note from the editors: enterovirus D68 epidemiology in France and Germany-food for thought. / Eurosurveillance editorial team, Eurosurveillance editorial team, Eurosurveillance editorial team et. al // *Euro surveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. – 2016. – Vol. 21, № 19. – P. 30229.

128. Faleye, T.O.C. Non-polio enteroviruses in faeces of children diagnosed with acute flaccid paralysis in Nigeria. / T.O.C. Faleye, M.O. Adewumi, M.O. Japhet et. al // *Virology journal*. – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 175.

129. Farcy, C. Enterovirus nosocomial infections in a neonatal care unit: from diagnosis to evidence, from a clinical observation of a central nervous system infection. / C. Farcy, A. Mirand, S. Marque Juillet et. al // *Archives de pediatrie: organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. – 2012. – Vol. 19, № 9. – P. 921-926.

130. Fernandez-Garcia, M.D. Identification and molecular characterization of non-polio enteroviruses from children with acute flaccid paralysis in West Africa, 2013-2014. / M.D. Fernandez-Garcia, O. Kebe, A.D. Fall et. al // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 3808.

131. Flint, S.J. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis & Control / S.J. Flint, L.W. Enquist, R.M. Krug, V.R. Racaniello, A.M. Skalka. – Washington: ASM Press, 1999. – 800 p.

132. Foliguet, J.M. Viral pollution of water supplies, from surface and feedwaters. Study carried out in the departement français de Meurthe-et-Moselle. / J.M. Foliguet, L. Schwartzbrod, O.G. Gaudin // *Bulletin of the World Health Organization*. – 1966. – Vol. 35, № 5. – P. 737-749.

133. Fujimoto, T. Hand-Foot-and-Mouth Disease, Aseptic Meningitis, and Encephalitis Caused by Enterovirus. / T. Fujimoto // *Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo*. – 2018. – Vol. 70, № 2. – P. 121-131.

134. Gaaloul, I. Coxsackievirus B heart infections and their putative contribution to sudden unexpected death: An 8-year review of patients and victims in the coastal region of Tunisia / I. Gaaloul, S. Riabi, M. Evans et. al // *Forensic Science International*. – 2016. – Vol. 268 – P. 73-80.

135. Gaunt, E. Genetic characterization of human coxsackievirus A6 variants associated with atypical hand, foot and mouth disease: a potential role of recombination in emergence and pathogenicity. / E. Gaunt, H. Harvala, R. Österback et. al // *The Journal of general virology*. – 2015. – Vol. 96, № Pt 5. – P. 1067-1079.

136. Genoni, A. Revealing enterovirus infection in chronic human disorders: An integrated diagnostic approach. / A. Genoni, F. Canducci, A. Rossi et. al // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 5013.

137. Guo, S.W. Analysis of sparse contingency tables: Monte Carlo estimation of exact P-values. Technical Report. / S.W. Guo, E.A. Thompson. – Seattle, 1989. – 36 p.

138. Harik, N. Neonatal nonpolio enterovirus and parechovirus infections / N. Harik, R.L. DeBiasi // *Seminars in Perinatology*. – 2018. – Vol. 42, № 3. – P. 191-197.

139. Harvala, H. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe / H. Harvala, E. Broberg, K. Benschop et. al // *Journal of Clinical Virology*. – 2018. – Vol. 101 – P. 11-17.

140. Harvala, H. Surveillance and laboratory detection for non-polio enteroviruses in the European Union/European Economic Area, 2016. / H. Harvala, A. Jasir, P. Penttinen et. al // *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. – 2017. – Vol. 22, № 45. – P.

16-00807.

141. Hasegawa, A. Virologic and serologic studies on an outbreak of Echovirus type 11 infection in a hospital maternity unit / A. Hasegawa // Japanese Journal of Medical Science and Biology. – 1975. – Vol. 28, № 3. – P. 179-188.

142. Herrero, L.J. Molecular epidemiology of enterovirus 71 in peninsular Malaysia, 1997-2000 / L.J. Herrero, C.S.M. Lee, R.J. Hurrelbrink et. al // Archives of Virology. – 2003. – Vol. 148, № 7. – P. 1369-1385.

143. Ho, M. An Epidemic of Enterovirus 71 Infection in Taiwan / M. Ho, E.-R. Chen, K.-H. Hsu et. al // New England Journal of Medicine. – 1999. – Vol. 341, № 13. – P. 929-935.

144. Ho, M. Enterovirus 71: past and present / M. Ho // APEC Enteroviral Watch Program for Children Symposium Proceedings, Taipei. – 2000. – P. 10-15.

145. Ho, M. Enterovirus 71: the virus, its infections and outbreaks. / M. Ho // Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi. – 2000. – Vol. 33, № 4. – P. 205-16.

146. Holm-Hansen, C.C. Global emergence of enterovirus D68: a systematic review / C.C. Holm-Hansen, S.E. Midgley, T.K. Fischer // The Lancet Infectious Diseases. – 2016. – Vol. 16, № 5. – P. e64-e75.

147. Holmes, C.W. Predominance of enterovirus B and echovirus 30 as cause of viral meningitis in a UK population / C.W. Holmes, S.S.F. Koo, H. Osman et. al // Journal of Clinical Virology. – 2016. – Vol. 81 – P. 90-93.

148. Huang, F.-L. An outbreak of enterovirus 71 in a nursery / F.-L. Huang, C.-H. Chen, S.-K. Huang et. al // Scandinavian Journal of Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 42, № 8. – P. 609-612.

149. Huang, S.-W. Reemergence of Enterovirus 71 in 2008 in Taiwan: Dynamics of Genetic and Antigenic Evolution from 1998 to 2008 / S.-W. Huang, Y.-W. Hsu, D.J. Smith et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 2009. – Vol. 47, № 11. – P. 3653-3662.

150. Hung, T.-H. Association between enterovirus infection and speech and language impairments: A nationwide population-based study / T.-H. Hung, V.C.-H.

Chen, Y.-H. Yang et. al // *Research in Developmental Disabilities*. – 2018. – Vol. 77 – P. 76-86.

151. Hyypiä, T. Classification of enteroviruses based on molecular and biological properties. / T. Hyypiä, T. Hovi, N.J. Knowles et. al // *The Journal of general virology*. – 1997. – Vol. 78 (Pt 1) – P. 1-11.

152. Ivanova, O.E. Environmental Surveillance for Poliovirus and Other Enteroviruses: Long-Term Experience in Moscow, Russian Federation, 2004–2017. / O.E. Ivanova, M.S. Yarmolskaya, T.P. Eremeeva et. al // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11, № 5. – P. 2-13.

153. Jankovic, B. Severe neonatal echovirus 17 infection during a nursery outbreak. / B. Jankovic, S. Pasic, B. Kanjuh et. al // *The Pediatric infectious disease journal*. – 1999. – Vol. 18, № 4. – P. 393-394.

154. Jeong, E.-J. Molecular characterization of enteroviruses detected in Gyeong-Ju and Po-Hang provinces of Korea in 2003 / E.-J. Jeong, J.-H. Lee, M.-S. Kim et. al // *Archives of Virology*. – 2010. – Vol. 155, № 10. – P. 1707-1712.

155. Jones, E. Outcomes following severe hand foot and mouth disease: A systematic review and meta-analysis / E. Jones, T.D. Pillay, F. Liu et. al // *European Journal of Paediatric Neurology*. – 2018. – Vol. 22, № 5. – P. 763-773.

156. Jones, G. Enteroviral Meningoencephalitis Complicated by Central Diabetes Insipidus in a Neonate: A Case Report and Review of the Literature / G. Jones, M. Muriello, A. Patel et. al // *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. – 2015. – Vol. 4, № 2. – P. 155-158.

157. Karelehto, E. Enterovirus D68 serosurvey: evidence for endemic circulation in the Netherlands, 2006 to 2016 / E. Karelehto, G. Koen, K. Benschop et. al // *Eurosurveillance*. – 2019. – Vol. 24, № 35.

158. Kawamura, N. Determinants in the 5' noncoding region of poliovirus Sabin 1 RNA that influence the attenuation phenotype. / N. Kawamura, M. Kohara, S. Abe et. al // *Journal of virology*. – 1989. – Vol. 63, № 3. – P. 1302-1309.

159. Kelly, S. Poliomyelitis and other enteric viruses in sewage. / S. Kelly, W. Winkelstein, J. Winsler // *American journal of public health and the nation's health*. –

1957. – Vol. 47, № 1. – P. 72-77.

160. Kelly, S.M. The effect of sewage treatment on viruses / S.M. Kelly, W.W. Sanderson // *Sewage and Industrial wastes*. – 1959. – Vol. 31, № 6. – P. 683-689.

161. Kennett, M.L. Enterovirus type 71 infection in Melbourne. / M.L. Kennett, C.J. Birch, F.A. Lewis et. al // *Bulletin of the World Health Organization*. – 1974. – Vol. 51, № 6. – P. 609-615.

162. Kesson, A.M. Echovirus 19 associated with a case of acute flaccid paralysis / A.M. Kesson, C.M. Choo, C. Troedson et. al // *Journal of Paediatrics and Child Health*. – 2013. – Vol. 49, № 3. – P. E239-E242.

163. Kew, O.M. Prolonged replication of a type 1 vaccine-derived poliovirus in an immunodeficient patient / O.M. Kew, R.W. Sutter, B.K. Nottay et. al // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36, № 10. – P. 2893-2899.

164. Kingma, D.P. Adam: A Method for Stochastic Optimization / D.P. Kingma, J. Ba // *Published as a conference paper at ICLR 2015*. – 2017. – P. 15.

165. Komatsu, H. Outbreak of severe neurologic involvement associated with enterovirus 71 infection / H. Komatsu, Y. Shimizu, Y. Takeuchi et. al // *Pediatric Neurology*. – 1999. – Vol. 20, № 1. – P. 17-23.

166. Kraus, W. Rhodanine resistance and dependence of echovirus 12: a possible consequence of capsid flexibility. / W. Kraus, H. Zimmermann, H.J. Eggers et. al // *Journal of virology*. – 1997. – Vol. 71, № 2. – P. 1697-702.

167. Kuan, M.M. Detection and rapid differentiation of human enteroviruses following genomic amplification. / M.M. Kuan // *Journal of clinical microbiology*. – 1997. – Vol. 35, № 10. – P. 2598-601.

168. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Molecular Biology and Evolution*. – 2016. – Vol. 33, № 7. – P. 1870-1874.

169. Kung, S.-H. Genetic and antigenic analyses of enterovirus 71 isolates in Taiwan during 1998–2005 / S.-H. Kung, S.-F. Wang, C.-W. Huang et. al // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2007. – Vol. 13, № 8. – P. 782-787.

170. Kusuhara, K. An echovirus type 18 outbreak in a neonatal intensive care

unit / K. Kusuhara, M. Saito, Y. Sasaki et. al // *European Journal of Pediatrics*. – 2008. – Vol. 167, № 5. – P. 587-589.

171. Laiho, J.E. Application of bioinformatics in probe design enables detection of enteroviruses on different taxonomic levels by advanced in situ hybridization technology / J.E. Laiho, S. Oikarinen, M. Oikarinen et. al // *Journal of Clinical Virology*. – 2015. – Vol. 69 – P. 165-171.

172. Lei, X. Innate Immunity Evasion by Enteroviruses: Insights into Virus-Host Interaction. / X. Lei, X. Xiao, J. Wang // *Viruses*. – 2016. – Vol. 8, № 1. – P. 22.

173. Li, Y.Y. Genotype distribution of human enteroviruses isolated from swage in Shanghai during year 2013-2014. / Y.Y. Li, J. Lu, X.Z. Wang et. al // *Zhonghua yu fang yi xue za zhi* [Chinese journal of preventive medicine]. – 2017. – Vol. 51, № 2. – P. 154-159.

174. Lin, K.-H. Evolution of EV71 genogroup in Taiwan from 1998 to 2005: An emerging of subgenogroup C4 of EV71 / K.-H. Lin, K.-P. Hwang, G.-M. Ke et. al // *Journal of Medical Virology*. – 2006. – Vol. 78, № 2. – P. 254-262.

175. Lin, W. Clinical features for 89 deaths of hand, foot and mouth disease in Guangxi, China, 2014 / W. Lin, Y. Su, M. Jiang et. al // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 64 – P. 15-19.

176. Lin, Y.-W. Enterovirus 71 infection of human dendritic cells / Y.-W. Lin, S.-W. Wang, Y.-Y. Tung et. al // *Experimental biology and medicine*. – 2009. – Vol. 234, № 10. – P. 1166-1173.

177. Liu, W. Co-Circulation and Genomic Recombination of Coxsackievirus A16 and Enterovirus 71 during a Large Outbreak of Hand, Foot, and Mouth Disease in Central China / W. Liu, S. Wu, Y. Xiong et. al // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 4. – P. e96051.

178. Ljungman, P. Enterovirus D68: a new threat to hematology patients? / P. Ljungman // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, № 11. – P. 1683-1684.

179. Lugo, D. Enteroviruses in the early 21st century: new manifestations and challenges. / D. Lugo, P. Krogstad // *Current opinion in pediatrics*. – 2016. – Vol. 28, № 1. – P. 107-113.

180. Lukashev, A.N. Recombination in circulating enteroviruses. / A.N. Lukashev, V.A. Lashkevich, O.E. Ivanova et. al // Journal of virology. – 2003. – Vol. 77, № 19. – P. 10423-31.

181. Lukashev, A.N. Recombination in circulating Human enterovirus B: independent evolution of structural and non-structural genome regions / A.N. Lukashev, V.A. Lashkevich, O.E. Ivanova et. al // Journal of General Virology. – 2005. – Vol. 86, № 12. – P. 3281-3290.

182. Lukashev, A.N. Recombination strategies and evolutionary dynamics of the Human enterovirus A global gene pool / A.N. Lukashev, E.Y. Shumilina, I.S. Belalov, O.E. Ivanova, T.P. Eremeeva, V.I. Reznik, O.E. Trotsenko, J.F. Drexler, C. Drosten // Journal of General Virology. – 2014. – Vol. 95, № 4. – C. 868-873.

183. Lukashev, A.N. Molecular evolution of types in non-polio enteroviruses / A.N. Lukashev, Y.A. Vakulenko // Journal of General Virology. – 2017. – Vol. 98, № 12. – P. 2968-2981.

184. Lum, L.C.S. Fatal enterovirus 71 encephalomyelitis / L.C.S. Lum, K.T. Wong, S.K. Lam et. al // The Journal of Pediatrics. – 1998. – Vol. 133, № 6. – P. 795-798.

185. Ma, S. A severe case of co-infection with Enterovirus 71 and vaccine-derived Poliovirus type II / S. Ma, Z. Du, M. Feng et. al // Journal of Clinical Virology. – 2015. – Vol. 72 – P. 25-29.

186. Mak, N.-K. Inhibition of RANTES expression by indirubin in influenza virus-infected human bronchial epithelial cells / N.-K. Mak, C.-Y. Leung, X.-Y. Wei et. al // Biochemical Pharmacology. – 2004. – Vol. 67, № 1. – P. 167-174.

187. Makridakis, S. Metode dan aplikasi peramalan / S. Makridakis, S.C. Wheelwright, V.E. McGee // Jakarta: Penerbit Erlangga. – 1999. – P. 493-494

188. Mantri, S. Enterovirus causes rapidly progressive dementia in a 28-year-old immunosuppressed woman / S. Mantri, B.B. Shah // Journal of NeuroVirology. – 2016. – Vol. 22, № 4. – P. 538-540.

189. Mao, Q. EV71 vaccine, a new tool to control outbreaks of hand, foot and mouth disease (HFMD) / Q. Mao, Y. Wang, L. Bian et. al // Expert Review of Vaccines.

– 2016. – Vol. 15, № 5. – P. 599-606.

190. Marguerite, N. A major outbreak of conjunctivitis caused by coxsackievirus A24, Réunion, January to April 2015. / N. Marguerite, E. Brottet, F. Pagès et. al // Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. – 2016. – Vol. 21, № 26. – P. 1560-7917.

191. Marjomäki, V. Infectious Entry Pathway of Enterovirus B Species / V. Marjomäki, P. Turkki, M. Huttunen // Viruses. – 2015. – Vol. 7, № 12. – P. 6387-6399.

192. Mbaeyi, C. Response to a Large Polio Outbreak in a Setting of Conflict - Middle East, 2013-2015. / C. Mbaeyi, M.J. Ryan, P. Smith et. al // MMWR. Morbidity and mortality weekly report. – 2017. – Vol. 66, № 8. – P. 227-231.

193. McDonald, L.L. Nosocomial infection with ECHO virus type 31 in a neonatal intensive care unit. / L.L. McDonald, J.W. Geme, B.H. Arnold // Pediatrics. – 1971. – Vol. 47, № 6. – P. 995-999.

194. McMinn, P.C. Recent advances in the molecular epidemiology and control of human enterovirus 71 infection / P.C. McMinn // Current Opinion in Virology. – 2012. – Vol. 2, № 2. – P. 199-205.

195. McWilliam Leitch, E.C. Transmission networks and population turnover of echovirus 30. / E.C. McWilliam Leitch, J. Bendig, M. Cabrerizo et. al // Journal of virology. – 2009. – Vol. 83, № 5. – P. 2109-2118.

196. Melica, G. Acute enteritis associated with Coxsackievirus A19 in a kidney transplant patient. / G. Melica, A.-L. Langlois, J. Le Goff et. al // Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society. – 2014. – Vol. 16, № 2. – P. 344-346.

197. Melnick, J.L. Enterovirus Type 71 Infections: A Varied Clinical Pattern Sometimes Mimicking Paralytic Poliomyelitis / J.L. Melnick // Clinical Infectious Diseases. – 1984. – Vol. 6, № Supplement_2. – P. S387-S390.

198. Melnick, J.L. Enteroviruses / J.L. Melnick // Viral infections of humans. – Springer, 1984. – P. 187-251.

199. Mertens, T. Epidemiology of an outbreak in a maternity unit of infections with an antigenic variant of echovirus 11 / T. Mertens, H. Hager, H.J. Eggers // Journal

of Medical Virology. – 1982. – Vol. 9, № 2. – P. 81-91.

200. Minor, P.D. The molecular biology of poliovaccines / P.D. Minor // Journal of General Virology. – 1992. – Vol. 73, № 12. – P. 3065-3077.

201. Mizuta, K. Molecular epidemiology of enterovirus 71 strains isolated from children in Yamagata, Japan, between 1990 and 2013 / K. Mizuta, Y. Aoki, Y. Matoba et. al // Journal of Medical Microbiology. – 2014. – Vol. 63, № Pt_10. – P. 1356-1362.

202. Mladenova, Z. Aseptic meningitis outbreak caused by echovirus 30 in two regions in Bulgaria, May–August 2012 / Z. Mladenova, G. Buttinelli, A. Dikova et. al // Epidemiology and Infection. – 2014. – Vol. 142, № 10. – P. 2159-2165.

203. Monazah, A. Evaluation of a rapid detection for Coxsackievirus B3 using one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) / A. Monazah, M. Zeinoddini, A.R. Saeedinia // Journal of Virological Methods. – 2017. – Vol. 246 – P. 27-33.

204. Montmayeur, A.M. High-Throughput Next-Generation Sequencing of Polioviruses / A.M. Montmayeur, T.F.F. Ng, A. Schmidt et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 2017. – Vol. 55, № 2. – P. 606-615.

205. Moss, E.G. Mapping of attenuating sequences of an avirulent poliovirus type 2 strain. / E.G. Moss, R.E. O'Neill, V.R. Racaniello // Journal of virology. – 1989. – Vol. 63, № 5. – P. 1884-90.

206. Munsell, E. V. Journey to the Center of the Cell: Current Nanocarrier Design Strategies Targeting Biopharmaceuticals to the Cytoplasm and Nucleus. / E. V Munsell, N.L. Ross, M.O. Sullivan // Current pharmaceutical design. – 2016. – Vol. 22, № 9. – P. 1227-1244.

207. Muscatello, D.J. Translation of Real-Time Infectious Disease Modeling into Routine Public Health Practice / D.J. Muscatello, A.A. Chughtai, A. Heywood et. al // Emerging Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 23, № 5. P. e1-e6.

208. Nagy, G. Virological diagnosis of enterovirus type 71 infections: Experiences gained during an epidemic of acute CNS diseases in Hungary in 1978 / G. Nagy, S. Takatsy, E. Kukan et. al // Archives of Virology. – 1982. – Vol. 71, № 3. – P. 217-227.

209. Nair, V. Rectified linear units improve restricted boltzmann machines / V. Nair, G.E. Hinton // Proceedings of the 27th international conference on machine learning (ICML-10). – 2010 – P. 807-814.
210. Nakata, K. A Child with Acute Encephalopathy Associated with Quadruple Viral Infection / K. Nakata, M. Kashiwagi, M. Masuda et. al // Frontiers in Pediatrics. – 2015. – Vol. 3 – P. a26:1-4.
211. Nasri, D. Basic rationale, current methods and future directions for molecular typing of human enterovirus. / D. Nasri, L. Bouslama, S. Pillet et. al // Expert review of molecular diagnostics. – 2007. – Vol. 7, № 4. – P. 419-34.
212. Nasri, D. Typing of Human Enterovirus by Partial Sequencing of VP2 / D. Nasri, L. Bouslama, S. Omar et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – Vol. 45, № 8. – P. 2370-2379.
213. Ngoc, T.N. Epidemiological and clinical characteristics of children who died from hand, foot and mouth disease in Vietnam, 2011 / T.N. Ngoc, V.P. Hau, Q.H. Cuong, M.N. Tien, T.N. Long, C.P. Hung, T.P. Lan, N.V. Long, N.T.M. Nguyen // BMC Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 341-348.
214. Nishimura, Y. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71 / Y. Nishimura, M. Shimojima, Y. Tano et. al // Nature medicine. – 2009. – Vol. 15, № 7. – P. 794.
215. Nix, W.A. Sensitive, Seminested PCR Amplification of VP1 Sequences for Direct Identification of All Enterovirus Serotypes from Original Clinical Specimens / W.A. Nix, M.S. Oberste, M.A. Pallansch // Journal of Clinical Microbiology. – 2006. – Vol. 44, № 8. – P. 2698-2704.
216. Nobusawa, E. Comparison of the mutation rates of human influenza A and B viruses / E. Nobusawa, K. Sato // Journal of virology. – 2006. – Vol. 80, № 7. – P. 3675-3678.
217. Novoselov, A. V. A single amino acid substitution controls DAF-dependent phenotype of echovirus 11 in rhabdomyosarcoma cells / A. V. Novoselov, A. V. Rezyaykin, A.G. Sergeev et. al // Virus Research. – 2012. – Vol. 166, № 1-2. – P. 87-96.

218. Ny, N.T.H. Enterovirus D68 in Viet Nam (2009-2015). / N.T.H. Ny, N.T. Anh, V.T.T. Hang et. al // Wellcome open research. – 2017. – Vol. 2 – P. 41.
219. Oberste, M.S. Enterovirus 68 is associated with respiratory illness and shares biological features with both the enteroviruses and the rhinoviruses / M.S. Oberste, K. Maher, D. Schnurr et. al // Journal of General Virology. – 2004. – Vol. 85, № 9. – P. 2577-2584.
220. Oberste, M.S. Molecular Evolution of the Human Enteroviruses: Correlation of Serotype with VP1 Sequence and Application to Picornavirus Classification / M.S. Oberste, K. Maher, D.R. Kilpatrick et. al // Journal of Virology. – 1999. – Vol. 73, № 3. – P. 1941-1948.
221. Oberste, M.S. Molecular identification of 13 new enterovirus types, EV79–88, EV97, and EV100–101, members of the species Human Enterovirus B / M.S. Oberste, K. Maher, W.A. Nix et. al // Virus Research. – 2007. – Vol. 128, № 1-2. – P. 34-42.
222. Oberste, M.S. Species-specific RT-PCR amplification of human enteroviruses: a tool for rapid species identification of uncharacterized enteroviruses / M.S. Oberste // Journal of General Virology. – 2006. – Vol. 87, № 1. – P. 119-128.
223. Oberste, M.S. Typing of Human Enteroviruses by Partial Sequencing of VP1 / M.S. Oberste, K. Maher, D.R. Kilpatrick et. al // Journal of Clinical Microbiology. – 1999. – Vol. 37, № 5. – P. 1288-1293.
224. Oberste, M.S. Molecular phylogeny of all human enterovirus serotypes based on comparison of sequences at the 5' end of the region encoding VP2 / M.S. Oberste, K. Maher, M.A. Pallansch // Virus Research. – 1998. – Vol. 58, № 1-2. – P. 35-43.
225. Ooi, E.-E. Seroepidemiology of human enterovirus 71, Singapore. / E.-E. Ooi, M.-C. Phoon, B. Ishak et. al // Emerging infectious diseases. – 2002. – Vol. 8, № 9. – P. 995-997.
226. Österback, R. Coxsackievirus A6 and Hand, Foot, and Mouth Disease, Finland / R. Österback, T. Vuorinen, M. Linna et. al // Emerging Infectious Diseases. – 2009. – Vol. 15, № 9. – P. 1485-1488.

227. Othman, I. Enterovirus Migration Patterns between France and Tunisia / I. Othman, A. Mirand, I. Slama et. al // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10, № 12. – P. e0145674.
228. Parker, J.T. Enhancing Laboratory Response Network Capacity in South Korea / J.T. Parker, A.-C. Juren, L. Lowe et. al // Emerging Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 23, № 13. – P. S126.
229. Peci, A. Coxsackieviruses in Ontario, January 2005 to December 2011 / A. Peci, A.-L. Winter, A. Eshaghi et. al // International Journal of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 25 – P. 136-141.
230. Pennino, F. Large-Scale Survey of Human Enteroviruses in Wastewater Treatment Plants of a Metropolitan Area of Southern Italy / F. Pennino, A. Nardone, P. Montuori et. al // Food and Environmental Virology. – 2018. – Vol. 10, № 2. – P. 187-192.
231. Picornavirus Home [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.picornaviridae.com/>. – Дата доступа: 03.09.2019.
232. Piralla, A. Enterovirus-D68 (EV-D68) in pediatric patients with respiratory infection: The circulation of a new B3 clade in Italy / A. Piralla, N. Principi, L. Ruggiero et. al // Journal of Clinical Virology. – 2018. – Vols. 99-100 – P. 91-96.
233. Piralla, A. Genome Characterisation of Enteroviruses 117 and 118: A New Group within Human Enterovirus Species C / A. Piralla, C. Daleno, A. Scala et. al // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. e60641.
234. Pittet, D. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene / D. Pittet, S. Hugonnet, S. Harbarth et. al // The Lancet. – 2000. – Vol. 356, № 9238. – P. 1307-1312.
235. Poelman, R. The emergence of enterovirus D68 in a Dutch University Medical Center and the necessity for routinely screening for respiratory viruses / R. Poelman, E.H. Schölvink, R. Borger et. al // Journal of Clinical Virology. – 2015. – Vol. 62 – P. 1-5.
236. Pons-Salort, M. The seasonality of nonpolio enteroviruses in the United States: Patterns and drivers. / M. Pons-Salort, M.S. Oberste, M.A. Pallansch et. al //

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2018. – Vol. 115, № 12. – P. 3078-3083.

237. Poyry, T. Genetic and phylogenetic clustering of enteroviruses / T. Poyry, L. Kinnunen, T. Hyypia et. al // Journal of General Virology. – 1996. – Vol. 77, № 8. – P. 1699-1717.

238. Puenpa, J. Molecular epidemiology and the evolution of human coxsackievirus A6 / J. Puenpa, S. Vongpunsawad, R. Österback et. al // Journal of General Virology. – 2016. – Vol. 97, № 12. – P. 3225-3231.

239. Rabkin, C.S. Outbreak of echovirus 11 infection in hospitalized neonates. / C.S. Rabkin, E.E. Telzak, M.S. Ho et. al // The Pediatric infectious disease journal. – 1988. – Vol. 7, № 3. – P. 186-190.

240. Racaniello, V.R. Picornaviridae, the virus and their replication / V.R. Racaniello // Fields virology. – 2007 – P. 795-838.

241. Radanović, I. Chronic meningoencephalitis caused by Echo virus 6 in a patient with common variable immunodeficiency / I. Radanović, D. Rkman, P. Zekan et. al // Wiener klinische Wochenschrift. – 2018. – Vol. 130, № 1-2. – P. 70-72.

242. Rames, E. Evaluation of MinION nanopore sequencing for rapid enterovirus genotyping / E. Rames, J. Macdonald // Virus Research. – 2018. – Vol. 252 – P. 8-12.

243. Ramsingh, A.I. Genetic mapping of the determinants of plaque morphology of coxsackievirus B4. / A.I. Ramsingh, M. Caggana, S. Ronstrom // Archives of virology. – 1995. – Vol. 140, № 12. – P. 2215-2226.

244. Rhoades, R.E. Enterovirus infections of the central nervous system / R.E. Rhoades, J.M. Tabor-Godwin, G. Tsueng et. al // Virology. – 2011. – Vol. 411, № 2. – P. 288-305.

245. Robinson, C.M. Sex-Dependent Intestinal Replication of an Enteric Virus. / C.M. Robinson, Y. Wang, J.K. Pfeiffer // Journal of virology. – 2017. – Vol. 91, № 7. – P. 1-27.

246. Romanenkova, N.I. Enterovirus infection morbidity and peculiarities of nonpolio enteroviruses circulation on some territories of Russia in 2017 / N.I.

Romanenkova, L.N. Golitsyna, M.A. Bichurina et. al // *Journal Infectology*. – 2018. – Vol. 10, № 4. – P. 124-133.

247. Rotbart, H.A. Picornavirus infections: a primer for the practitioner. / H.A. Rotbart, F.G. Hayden // *Archives of family medicine*. – Vol. 9, № 9. – P. 913-20.

248. Runckel, C. Identification and Manipulation of the Molecular Determinants Influencing Poliovirus Recombination / C. Runckel, O. Westesson, R. Andino et. al // *PLoS Pathogens*. – 2013. – Vol. 9, № 2. – P. e1003164.

249. Salvatoni, A. Intrafamilial spread of enterovirus infections at the clinical onset of type 1 diabetes / A. Salvatoni, A. Baj, G. Bianchi et. al // *Pediatric Diabetes*. – 2013. – Vol. 14, № 6. – P. 407-416.

250. Sanger, F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Nicklen, A.R. Coulson // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1977. – Vol. 74, № 12. – P. 5463-5467.

251. Sato, K. A new-born baby outbreak of echovirus type 33 infection / K. Sato, T. Yamashita, K. Sakae et. al // *Journal of Infection*. – 1998. – Vol. 37, № 2. – P. 123-126.

252. Sejvar, J.J. Acute Flaccid Myelitis in the United States, August–December 2014: Results of Nationwide Surveillance / J.J. Sejvar, A.S. Lopez, M.M. Cortese et. al // *Clinical Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 63, № 6. – P. 737-745.

253. Senault, R. Study of the effluents of septic tanks as a factor in the pollution of the external environment by fecal viruses. Results of a study in Meurthe and Moselle. / R. Senault, J.M. Foliguet, R. Laurent et. al // *Revue d'hygiene et de medecine sociale*. – 1965. – Vol. 13, № 4. – P. 283-302.

254. Shafren, D.R. Coxsackievirus A21 binds to decay-accelerating factor but requires intercellular adhesion molecule 1 for cell entry. / D.R. Shafren, D.J. Dorahy, R.A. Ingham et. al // *Journal of virology*. – 1997. – Vol. 71, № 6. – P. 4736-4743.

255. Shieh, J.T.C. Interaction with Decay-Accelerating Factor Facilitates Coxsackievirus B Infection of Polarized Epithelial Cells / J.T.C. Shieh, J.M. Bergelson // *Journal of Virology*. – 2002. – Vol. 76, № 18. – P. 9474-9480.

256. Singh, D.V. An outbreak of encephalitis associated with echovirus 19 in

Uttar Pradesh, India, in 2011 / D.V. Singh, A. Kumar, P. Kumar et. al // Archives of Virology. – 2016. – Vol. 161, № 4. – P. 967-970.

257. Solomon, T. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 / T. Solomon, P. Lewthwaite, D. Perera et. al // The Lancet Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 10, № 11. – P. 778-790.

258. Song, C.-L. Risk factors for death in children with severe hand, foot and mouth disease. / C.-L. Song, Y.-B. Cheng, D. Chen et. al // Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics. – 2014. – Vol. 16, № 10. – P. 1033-1036.

259. Soudée, S. Neonatal enterovirus infections reported in France in 2012. / S. Soudée, I. Schuffenecker, J. Aberchih et. al // Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie. – 2014. – Vol. 21, № 9. – P. 984-989.

260. Steinmann, J. Echovirus 11 outbreak among premature newborn infants in a neonatal intensive care unit. / J. Steinmann, K. Albrecht // Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene. Series A, Medical microbiology, infectious diseases, virology, parasitology. – 1985. – Vol. 259, № 2. – P. 284-293.

261. Strikas, R.A. Temporal and Geographic Patterns of Isolates of Nonpolio Enterovirus in the United States, 1970-1983 / R.A. Strikas, L.J. Anderson, R.A. Parker // Journal of Infectious Diseases. – 1986. – Vol. 153, № 2. – P. 346-351.

262. Syriopoulou, V.P. Clinical and epidemiological aspects of an enterovirus outbreak in a neonatal unit / V.P. Syriopoulou, C. Hadjichristodoulou, G.L. Daikos et. al // Journal of Hospital Infection. – 2002. – Vol. 51, № 4. – P. 275-280.

263. Takahashi, S. Hand, Foot, and Mouth Disease in China: Modeling Epidemic Dynamics of Enterovirus Serotypes and Implications for Vaccination / S. Takahashi, Q. Liao, T.P. Van Boeckel et. al // PLOS Medicine. – 2016. – Vol. 13, № 2. – P. e1001958.

264. Takami, T. Usefulness of nested PCR and sequence analysis in a nosocomial outbreak of neonatal enterovirus infection / T. Takami, H. Kawashima, Y. Takei et. al // Journal of Clinical Virology. – 1998. – Vol. 11, № 1. – P. 67-75.

265. Talele, T.T. Structure-based virtual screening, synthesis and SAR of novel inhibitors of hepatitis C virus NS5B polymerase. / T.T. Talele, P. Arora, S.S. Kulkarni

et. al // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2010. – Vol. 18, № 13. – P. 4630-4638.

266. Tee, K.K. Evolutionary genetics of human enterovirus 71: origin, population dynamics, natural selection, and seasonal periodicity of the VP1 gene / K.K. Tee, T.T.-Y. Lam, Y.F. Chan et. al // *Journal of virology*. – 2010. – Vol. 84, № 7. – P. 3339-3350.

267. Thao, N.T.T. Evolution and Spatiotemporal Dynamics of Enterovirus A71 Subgenogroups in Vietnam / N.T.T. Thao, C. Donato, V.T.H. Trang et. al // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 216, № 11. – P. 1371-1379.

268. Thorén, A. PCR for the Diagnosis of Enteroviral Meningitis / A. Thorén, A. Widell // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 1994. – Vol. 26, № 3. – P. 249-254.

269. Tu, P. Van. Epidemiologic and virologic investigation of hand, foot, and mouth disease, southern Vietnam, 2005. / P. Van Tu, N.T.T. Thao, D. Perera et. al // *Emerging infectious diseases*. – 2007. – Vol. 13, № 11. – P. 1733-1741.

270. Tu, Z. The cardiovirulent phenotype of coxsackievirus B3 is determined at a single site in the genomic 5' nontranslated region. / Z. Tu, N.M. Chapman, G. Hufnagel et. al // *Journal of virology*. – 1995. – Vol. 69, № 8. – P. 4607-4618.

271. Vliet, J.H. Pipetting errors in viral titrations: a useful approach / J.H. Vliet, P. Roussel // *Journal of Virological Methods*. – 1988. – Vol. 22, № 2-3. – P. 183-190.

272. Wang, C. Comprehensive virome analysis reveals the complexity and diversity of the viral spectrum in pediatric patients diagnosed with severe and mild hand-foot-and-mouth disease / C. Wang, S. Zhou, W. Xue et. al // *Virology*. – 2018. – Vol. 518 – P. 116-125.

273. Wang, G. Enterovirus D68 Subclade B3 Strain Circulating and Causing an Outbreak in the United States in 2016. / G. Wang, J. Zhuge, W. Huang et. al // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 1242.

274. Wang, J.-J. Simultaneous Point-of-Care Detection of Enterovirus 71 and Coxsackievirus B3 / J.-J. Wang, Y.-Z. Jiang, Y. Lin et. al // *Analytical Chemistry*. – 2015. – Vol. 87, № 21. – P. 11105-11112.

275. Wang, J. Epidemiological and serological surveillance of hand-foot-and-

mouth disease in Shanghai, China, 2012–2016 / J. Wang, Z. Teng, X. Cui et. al // *Emerging Microbes & Infections*. – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 1-12.

276. Wang, M. Rapid detection of hand, foot and mouth disease enterovirus genotypes by multiplex PCR / M. Wang, Q. Ren, Z. Zhang et. al // *Journal of Virological Methods*. – 2018. – Vol. 258 – P. 7-12.

277. Ward, T. Serum albumin inhibits echovirus 7 uncoating. / T. Ward, R.M. Powell, D.J. Evans et. al // *Journal of General Virology*. – 1999. – Vol. 80, № 2. – P. 283-290.

278. WHO guidelines on hand hygiene in health care: first global patient safety challenge clean care is safer care. – World Health Organization, 2009. – 260 p.

279. Wiley, J.S. Pathogen survival in composting municipal wastes / J.S. Wiley // *Journal (Water Pollution Control Federation)*. – 1962 – P. 80-90.

280. Wilson, C.W. A concurrent epidemic of respiratory syncytial virus and echovirus 7 infections in an intensive care nursery. / C.W. Wilson, D.K. Stevenson, A.M. Arvin // *The Pediatric infectious disease journal*. – 1989. – Vol. 8, № 1. – P. 24-29.

281. Witsø, E. Asymptomatic circulation of HEV71 in Norway / E. Witsø, G. Palacios, K.S. Rønningen et. al // *Virus Research*. – 2007. – Vol. 123, № 1. – P. 19-29.

282. Wolf, M.C. A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses / M.C. Wolf, A.N. Freiberg, T. Zhang et. al // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107, № 7. – P. 3157-3162.

283. Wulff, N.H. Monte Carlo simulation of the Spearman-Kaerber TCID₅₀ / N.H. Wulff, M. Tzatzaris, P.J. Young // *Journal of Clinical Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 5.

284. Xiao, K. Epidemiologic features of enterovirus associated with hand, foot and mouth disease in 2013 and 2014 in Shenzhen, China / K. Xiao, L. Duan, Y. Peng et. al // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 3856.

285. Yakovenko, M.L. The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt. / M.L. Yakovenko, A.P. Gmyl, O.E. Ivanova et. al // *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European*

communicable disease bulletin. – 2014. – Vol. 19, № 7. – P. 20706.

286. Yamayoshi, S. Scavenger receptor B2 is a cellular receptor for enterovirus 71 / S. Yamayoshi, Y. Yamashita, J. Li et. al // Nature medicine. – 2009. – Vol. 15, № 7. – P. 798.

287. Yan, X. Stratified Wilson and Newcombe Confidence Intervals for Multiple Binomial Proportions / X. Yan, X.G. Su // Statistics in Biopharmaceutical Research. – 2010. – Vol. 2, № 3. – P. 329-335.

288. Yang, B. Epidemiology of hand, foot and mouth disease in China, 2008 to 2015 prior to the introduction of EV-A71 vaccine / B. Yang, F. Liu, Q. Liao et. al // Eurosurveillance. – 2017. – Vol. 22, № 50. – P. 16-00824.

289. Yang, B. Sialylated glycans as receptor and inhibitor of enterovirus 71 infection to DLD-1 intestinal cells / B. Yang, H. Chuang, K.D. Yang // Virology journal. – 2009. – Vol. 6, № 1. – P. 141.

290. Yang, F. Survey of enterovirus infections from hand, foot and mouth disease outbreak in china, 2009 / F. Yang, T. Zhang, Y. Hu et. al // Virology Journal. – 2011. – Vol. 8, № 1. – P. 1-4.

291. Yang, Z.-Y. Mortality in Children with Severe Hand, Foot and Mouth Disease in Guangxi, China / Z.-Y. Yang, X.-Q. Chen, D. Sun et. al // Indian Pediatrics. – 2018. – Vol. 55, № 2. – P. 137-139.

292. Yarmolskaya, M.S. Molecular epidemiology of echoviruses 11 and 30 in Russia: Different properties of genotypes within an enterovirus serotype / M.S. Yarmolskaya, E.Y. Shumilina, O.E. Ivanova et. al // Infection, Genetics and Evolution. – 2015. – Vol. 30 – P. 244-248.

293. Yip, C.C.Y. Recombinant Coxsackievirus A2 and deaths of children, Hong Kong, 2012. / C.C.Y. Yip, S.K.P. Lau, P.C.Y. Woo et. al // Emerging infectious diseases. – 2013. – Vol. 19, № 8. – P. 1285-1288.

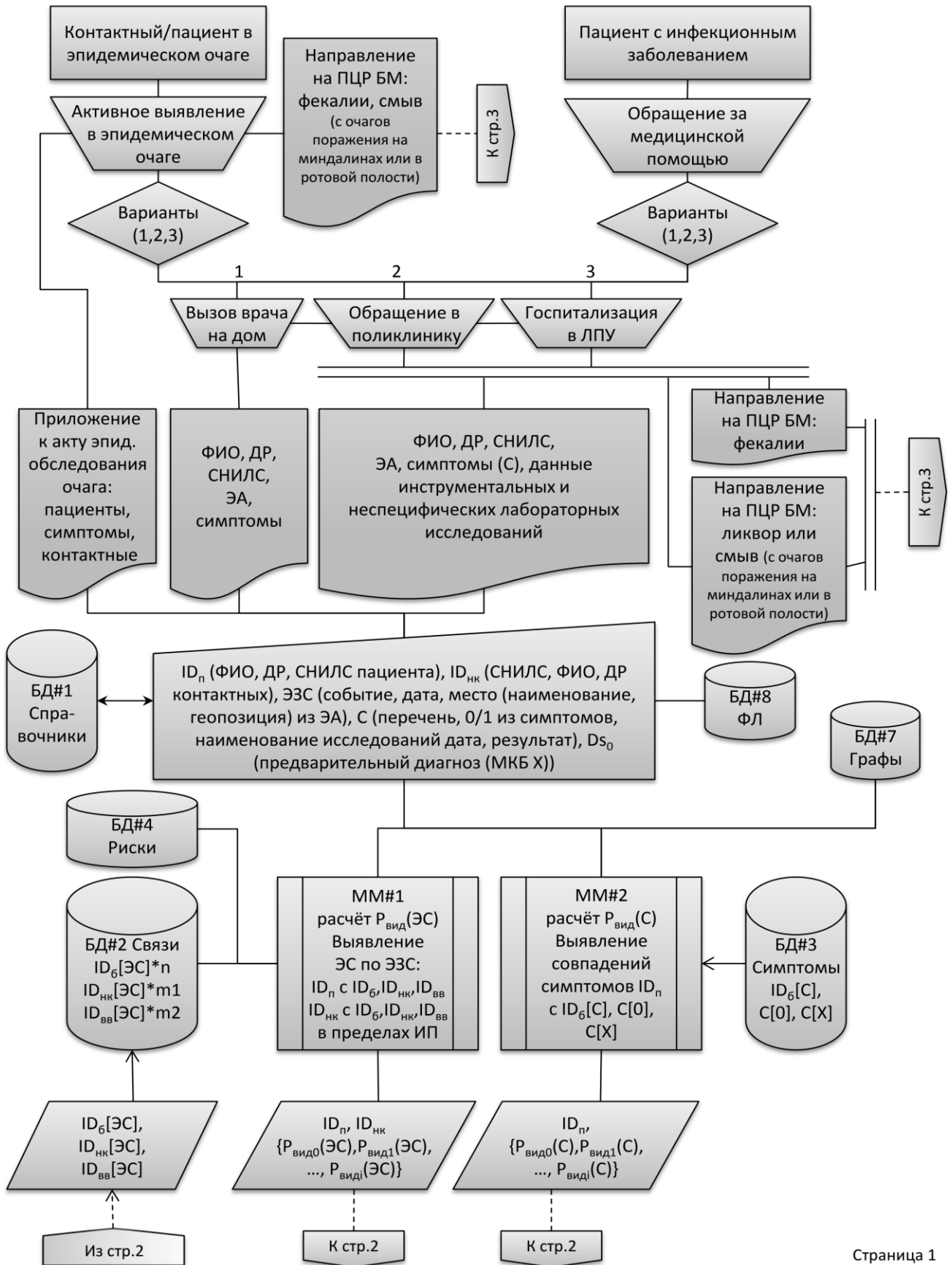
294. Zell, R. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. / R. Zell, E. Delwart, A.E. Gorbalenya et. al // The Journal of general virology. – 2017. – Vol. 98, № 10. – P. 2421-2422.

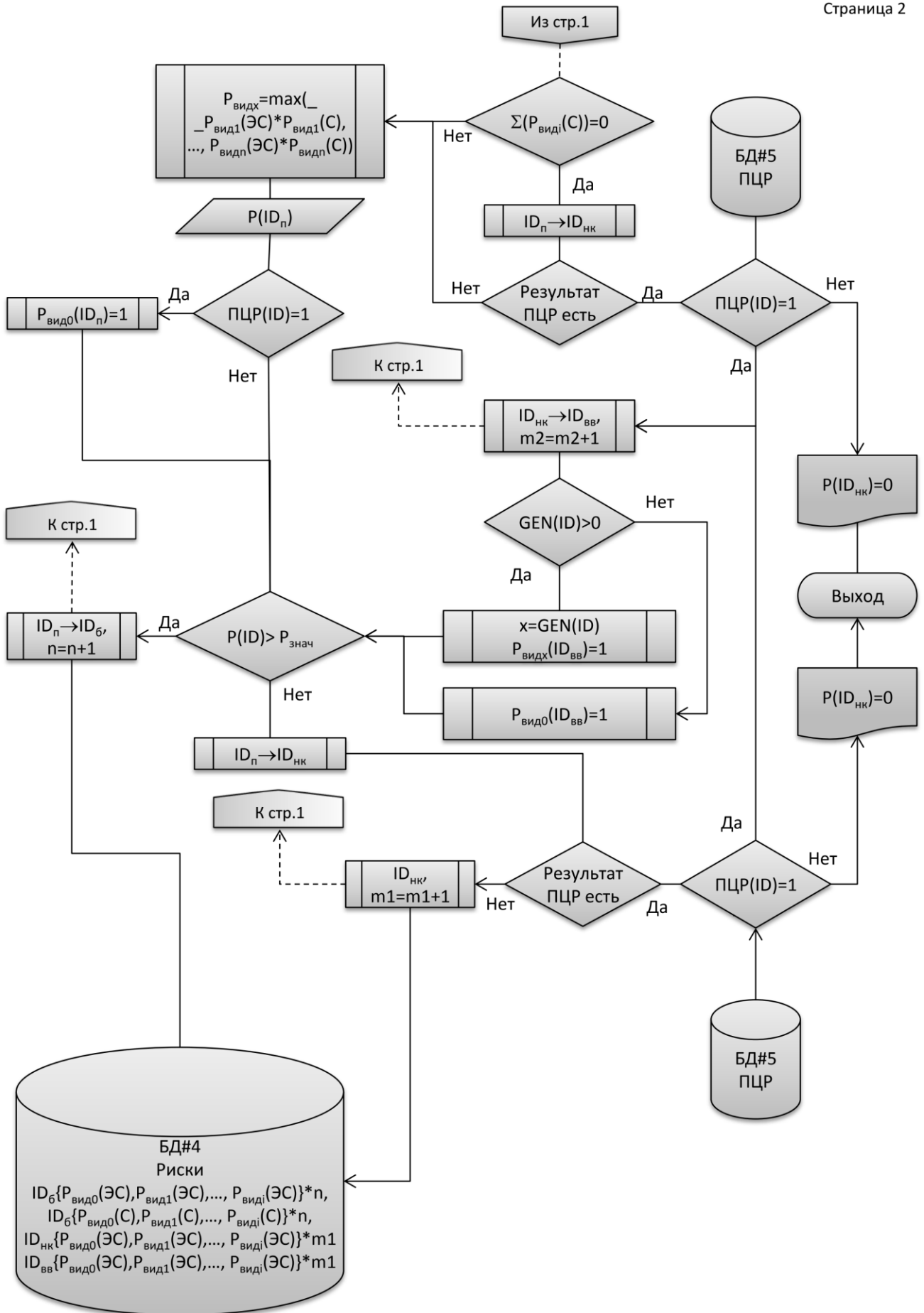
295. Zheng, G. Risk factors for death in children with critical and severe hand-

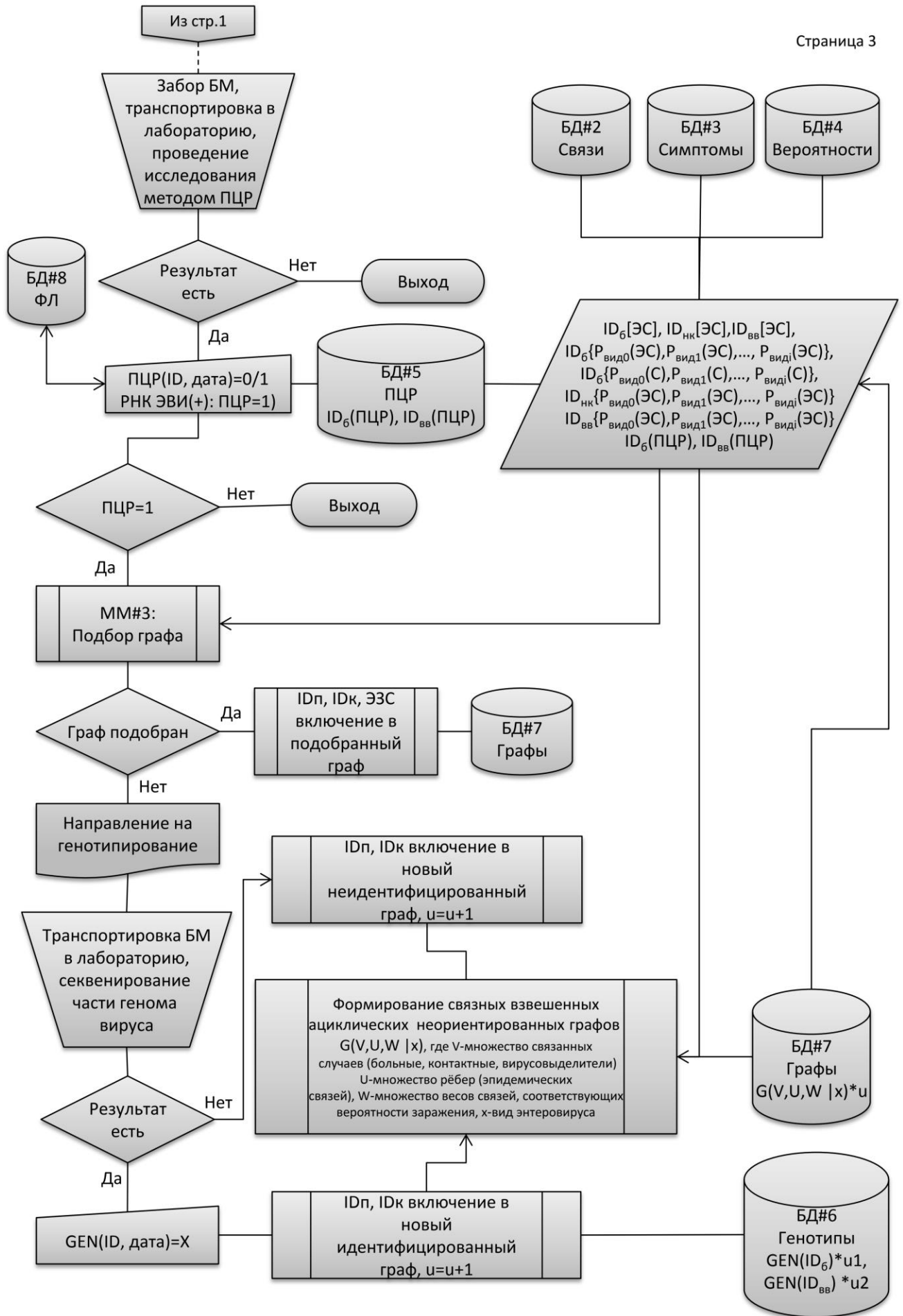
foot-and-mouth disease in Chongqing, China: An observational study. / G. Zheng, J. Cao, J. Yu et. al // *Medicine*. – 2017. – Vol. 96, № 49. – P. e8934.

296. Zhu, R. Serological survey of neutralizing antibodies to eight major enteroviruses among healthy population. / R. Zhu, T. Cheng, Z. Yin et. al // *Emerging microbes & infections*. – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 2.

Схема алгоритма сбора и обработки данных для эпидемиологической диагностики энтеровирусных инфекций







Список сокращений и определений

Сокращение	Расшифровка (определение)
ФИО	Фамилия, имя, отчество
ДР	дата рождения
СНИЛС	Страховой номер индивидуального лицевого счёта
ЭА	эпидемиологический анамнез
ЛПУ	лечебно-профилактическое учреждение
ПЦР	полимеразно-цепная реакция
БМ	биологический материал
С	перечень симптомов, в том числе результаты инструментальных и лабораторных исследований
БД#1	база данных "Справочники". Содержит справочники объектов (детские образовательные учреждения, детские оздоровительные лагеря, адреса семейных очагов, ЛПУ, прочие организации с массовым скоплением людей, геопозиции объектов, МКБ X, перечень симптомов, перечень лабораторных и инструментальных исследований, перечень эпидемиологически значимых событий) Формируется и пополняется администратором ИСЭД ЭВИ
БД#2	база данных "Связи". Содержит информацию об эпидемиологических связях между больными ЭВИ, лицами, находившимися в эпидемическом контакте, и вирусовыделителями. Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой
БД#3	база данных "Симптомы". Содержит информацию о: - симптомах, зарегистрированных у больных ЭВИ; - наборе симптомов, характерных для каждого мониторируемого вида и генотипа энтеровирусов; - симптомах, которые наряду с типичными проявлениями ЭВИ требуют снятия предварительного диагноза ЭВИ Формирование БД#3 осуществляется на основе анализа данных специалистами научно-методического центра по изучению ЭВИ
БД#4	база данных "Риски". Содержит множество значений рисков заражения больного, контактного, вирусовыделителя мониторируемыми видами энтеровируса. Риски представляются в виде вероятности, рассчитанной: - для больных по симптомам и факторам риска заражения; - для лиц, находившихся в эпидемическом контакте, и вирусовыделителей – только по факторам риска заражения Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой
БД#5	база данных "ПЦР". Содержит результаты выявления РНК энтеровирусов методом ПЦР, а также данные об используемых тест-системах Наполняется с использованием «АРМ Лаборатория»
БД#6	база данных "Генотипы". Содержит информацию о видах и генотипах энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ и вирусовыделителей Наполняется с использованием «АРМ НМЦ»
БД#7	база данных "Графы". Содержит информацию об эпидемических очагах ЭВИ представленных в виде графов Заполняется сведениями автоматически по результатам анализа, выполненного системой

Сокращение	Расшифровка (определение)
БД#8	база данных "ФЛ" (физические лица). Идентифицированные лица, вовлечённые в эпидемический процесс Заполняется сведениями автоматически при занесении в ИСЭД ЭВИ стандартного набора первичной информации о случае
ID _п	идентификатор пациента. Пациент в данном алгоритме – лицо с предварительным диагнозом ЭВИ. Идентификаторы лиц со статусом "пациент" используются для временного хранения до момента снятия или подтверждения предварительного диагноза ЭВИ
ID _б	идентификатор больного ЭВИ- лица, имеющего симптомы, характерные для ЭВИ и находившийся (но не обязательно) в эпидемическом контакте с другими больными ЭВИ, вирусовыделителями, контактными. Идентификаторы лиц со статусом "больной ЭВИ" подлежат накоплению в базах данных системы
ID _{нк}	идентификатор неподтверждённого контактного - лица, находившегося в эпидемическом контакте с пациентом (предположительно больным ЭВИ) и/или другими новыми контактными. Идентификаторы лиц со статусом "неподтверждённый контактный" используются для временного хранения до момента снятия предварительного диагноза ЭВИ у пациента эпидемически связанного с данными лицами, но при этом накапливаются в базах данных
ID _{вв}	идентификатор вирусовыделителя - лица, не имеющего симптомов, характерных для ЭВИ (в том числе здоровые) у которого в биологическом материале выделена РНК энтеровируса. Идентификаторы лиц со статусом "вирусовыделитель" подлежат накоплению в базах данных системы
ЭЗС	эпидемиологически значимое событие – контакт (событие), несущий потенциальную возможность заражения или передачи инфекции, выявленный на основе эпидемиологического анамнеза, а также по данным, хранящимся в БД#2. Каждое ЭЗС включает формализованное описание, дату, место. Каждое место события, в свою очередь, имеет наименование, геопозицию и дополнительные признаки (при необходимости)
ЭС	эпидемиологическая связь – контакт, выявленный на основе эпидемиологически значимых событий, несущий потенциальную возможность заражения или передачи инфекции, выявленный на основе сопоставления эпидемиологически значимых событий, а также по данным, хранящимся в БД#2, БД#4
Ds ₀	предварительный диагноз ЭВИ с кодом из МКБ-10
ММ#1	математическая модель анализа эпидемиологически значимых событий для проверки гипотез о передаче инфекции между субъектами исследования
ММ#2	математическая модель проверки гипотез о соответствии симптомокомплекса пациента симптомам: - больных, занесённых в БД#3; - характерным для каждого мониторируемого вида энтеровирусов; - наличие которых наряду с типичными проявлениями ЭВИ требуют отмены предварительного диагноза ЭВИ

Сокращение	Расшифровка (определение)
ММ#3	математическая модель "Побор графа" осуществляет проверку гипотез о принадлежности случая графам, содержащимся в БД#7 на основании анализа множеств рисков передачи инфекции (БД#4), наличия ЭС (БД#2) вероятностей соответствия симптомокомплекса проявлениям конкретного мониторируемого вида энтеровируса (БД#3), а также случаев, лабораторно подтверждённых методом ПЦР (БД#5)
i	количество мониторируемых видов энтеровирусов
n	число больных
m_1	число неподтверждённых контактных
m_2	число вирусовыделителей
$C[0]$	симптомы и симптомокомплексы, которые наряду с типичными проявлениями ЭВИ требуют снятия предварительного диагноза ЭВИ
$C[X]$	наборы симптомов характерных для каждого мониторируемого вида энтеровирусов
$ID_6[C]$	массив данных, содержащий информацию о симптомах больного ЭВИ
$ID_{п}[C]$	массив данных, содержащий информацию о симптомах пациента
$ID_{п}[ЭС]$	массив данных, содержащий информацию об эпидемических связях пациента, гипотетически приведших к заражению и/или передаче инфекции
$ID_{нк}[ЭС]$	массив данных, содержащий информацию об эпидемических связях лица, находившегося в эпидемическом контакте, гипотетически приведших к заражению и/или передаче инфекции
$ID_6[ЭС]$	массив данных, содержащий информацию об эпидемических связях больного ЭВИ, гипотетически приведших к заражению и/или передаче инфекции
$ID_{вв}[ЭС]$	массив данных, содержащий информацию об эпидемических связях вирусовыделителя, гипотетически приведших к заражению и/или передаче инфекции
$ID_6\{P_{вид0}(C), P_{вид1}(C), \dots, P_{видi}(C)\}$	множество вероятностей соответствия имеющегося у пациента симптомокомплекса симптомам, характерным для мониторируемых видов энтеровирусов
$ID_{к}\{P_{вид0}(ЭС), P_{вид1}(ЭС), \dots, P_{видi}(ЭС)\}$	множество вероятностей заражения пациента мониторируемыми видами энтеровируса
$вид_0$	неустановленный вид энтеровируса
$вид_{1...i}$	один из мониторируемых видов энтеровирусов
$P_{вид}(ЭС)$	вероятность наличия передачи энтеровируса, рассчитанная на основе анализа связей
$P_{вид}(C)$	вероятность наличия симптомов заболевания, вызванного энтеровирусом, рассчитанная на основе анализа соответствия симптомов пациента симптомокомплексу заболевания, вызванного энтеровирусом
$P(ID)$	вероятность наличия энтеровирусной инфекции у исследуемого субъекта
$P_{знач}$	Установленный научно-методическим центром по изучению ЭВИ, курирующим территорию, значимый уровень вероятности наличия энтеровирусной инфекции
$P_{вид0}(ЭС)$	вероятность наличия передачи неустановленного вида энтеровируса, рассчитанная на основе анализа связей

Сокращение	Расшифровка (определение)
$P_{\text{вид0}}(C)$	вероятность наличия симптомов заболевания, вызванного неустановленным видом энтеровируса, рассчитанная на основе анализа соответствия симптомов пациента симптомокомплексу заболевания, вызванного неустановленным видом энтеровируса
$P_{\text{видx}}(ЭС)$	вероятность наличия передачи мониторируемого вида энтеровируса, рассчитанная на основе анализа связей
$P_{\text{видx}}(C)$	вероятность наличия симптомов заболевания, вызванного мониторируемым видом энтеровируса, рассчитанная на основе анализа соответствия симптомов пациента симптомокомплексу заболевания, вызванного мониторируемым видом энтеровируса
GEN(ID)	массив данных, содержащий информацию о видах, генотипах и субтипах энтеровирусов, выделенных от субъектов исследования

Кандидаты растений, произрастающие на территории Российской Федерации,
с компонентами, обладающими антимикробной активностью

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
1.	Чистотел большой (Chelidonium majus)	Многолетнее травянистое растение. Цветет с мая по сентябрь. Плоды созревают в июне-сентябре (в зависимости от зоны произрастания).	Встречается по всей европейской части (кроме районов Крайнего Севера), на Северном Кавказе, на Дальнем Востоке, в Сибири встречается растение с более вытянутыми листовыми долями.	Во всех частях растения содержатся алкалоиды, количество которых в траве может достигать 2 %, в корнях - 4 %. Состав алкалоидов очень сложен, и по своей структуре они относятся к разным подгруппам изохинолиновых производных: протоберберинового алкалоиды (берберин, коптозин и др.), протопиновые алкалоиды (протопин, аллокриптопин), сангвиритрин, бензофенантретриновые алкалоиды (хелидонин, гомохелидонин, хелеритрин, метоксихелидонин, оксихелидонин, сангвинарин и др.). Помимо алкалоидов присутствуют сапонины, 0,01 % эфирного масла, до 1,87 % аскорбиновой кислоты, каротин, флавоноиды, органические кислоты (яблочная, лимонная и янтарная), витамин А, витамин С. В семенах содержится 40-60 % жирного масла. В плодах - жирные кислоты, кумарины.
2.	Тысячелистник обыкновенный (Achillea millefolium)	Многолетнее травянистое растение с ползучим, укореняющимся корневищем. Стебли прямостоячие, высотой до 80 см, сверху разветвляются в щитковидное соцветие мелких корзинок. Корзинки напоминают цветок длиной до 5 мм и состоят из 5 язычковых белых или розовых и 14-20 трубчатых желтовато-белых цветков. Листья прикорневые, розеточные, на стеблях	Повсеместное, кроме северных районов и пустынных мест.	В траве тысячелистника содержится до 0,8 % эфирного масла, в состав которого входят моно- (туйол, цинеол, камфора) и сесквитерпеноиды. Из листьев и соцветий кроме эфирного масла выделены 12 сесквитерпеновых лактонов (ацетилбалханолид, миллефин, ахиллицин, ахиллин и др.). Хамазулен как таковой в растении не обнаружен. Он образуется из некоторых сесквитерпеновых лактонов (прохамазуленов) в процессе отгонки эфирного масла. Найдены также флавоноиды (апигенин, лютеолин и их 7-0-глюкозиды, кактицин, артеметин, рутин),

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		очередные, ланцетные, дважды, - трижды перисторассеченные до коротких долей. Плод - семянка. Цветет с июня все лето, плоды созревают в июле-сентябре.		полиацетилены, стерины (β-ситостерин, стигмастерин, кампестерин, холестерин), тритерпеновые спирты (α- и β-амирины, таракастерин), а также вещества основного характера (бетоницин, ахиллеин, стахидрин, холин, бетаин и др.).
3.	Подорожник (Plantago)	Многолетнее травянистое растение с короткими корневищами и многочисленными мочковатыми корнями. Стебли безлистные, неветвистые, высотой до 50 см, на верхушке образуют колосовидное густое соцветие. Цветки невзрачные, буроватые, мелкие, сидят в пазухах пленчатых прицветников. Листья розеточные, эллиптические, сочные, голые, длинночерешковые, цельнокрайние или слабозубчатые с 3-7 параллельными жилками, которые при разрыве тянутся длинными нитями. Плод - эллиптическая коробочка с мелкими темно-коричневыми блестящими семенами (до 16). Цветет с мая до августа, плодоносит с июня до ноября.	Повсеместно, кроме Крайнего Севера и пустынной зоны.	Листья растения содержат гликозид аукубин, горькие и дубильные вещества, аскорбиновую кислоту (289 мг %), каротин (23 мг %), витамин К, витамин U (в свежем соке 2,4-2,75 мг % S-метилметионина). В свежих листьях найдены флавоноиды, маннит, сорбит, лимонная и олеаноловая кислоты. Все растение содержит слизь (полисахариды). Особенно много слизи в семенах (до 44 %), там же найдены жирное масло (до 22 %), олеаноловая кислота и азотистые вещества (2,98 %).
4.	Черёда (Bidens)	Однолетнее травянистое растение высотой от 15 до 100 см. Корни стержневые, разветвленные. Стебель круглый, супротивно-ветвящийся. Листья короткочерешковые, трехраздельные, с более крупной по	Повсеместно, кроме Крайнего Севера.	Трава содержит эфирное масло, флавоноиды, производные коричной кислоты, дубильные вещества с большим содержанием фракции полифенолов (наибольшее количество в фазе бутонизации), полисахариды (2,46 %, ГФ XI не менее 3,5 %), каротиноиды и каротин (накапливаются ко времени

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>краю ланцетной и пильчатой средней долей, расположены супротивно. Корзинки, чаще одиночные на концах веток, обертка двухрядная. Цветки трубчатые грязновато-желтые. Плод - семянка клиновидная, сплюснутая, длиной 6-8 мм, с двумя "цепкими" остями на верхушке. Цветет с июня по сентябрь, плодоносит в августе-сентябре.</p>		<p>цветения до 50-60 мг % в верхушках), аскорбиновую кислоту (во время цветения до 950 мг %), кумарины, халконы. Растение способно накапливать марганец.</p>
5.	<p>Шалфей лекарственный (Salvia officinalis)</p>	<p>Полукустарник высотой 20-50 см. В нижней части стебли ветвистые, округлые, деревянистые, в верхней - травянистые, четырехгранные, серо-зеленые. Листья простые, по форме удлинненно-ланцетовидные, с притупленной -верхушкой, у основания часто с лопастными выростами по краю, расположены супротивно, серо-зеленого цвета. Цветки обычно сине-фиолетовые, собраны ложными мутовками, имеют две тычинки и двугубый венчик, образуют колосовидные соцветия. Плод распадается на 4 плодика. Растение имеет сильный ароматный запах. Цветет в июне-июле, плодоносит в августе-сентябре.</p>	<p>Родина шалфея - Средиземноморье. В стране в диком виде не встречается. Культивируется в специализированных совхозах (Краснодарский край, Крым, Северный Кавказ).</p>	<p>Листья содержат эфирное масло (0,5-2,5 %), в состав которого входят цинеол (до 15 %), 1-а-туйон, d-b-туйон, d-а-пинен, сальвен, d-борнеол, d-камфора, цедрен. По ФС и ГФ XI требуется содержание эфирного масла не менее 0,8 % в цельном сырье. Кроме того, в листьях найдены алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, урсоловая, олеановая и хлорогеновая кислоты, витамин Р, никотиновая кислота, горечи, фитонциды, уваол, парадифенол. Из семян выделено жирное масло, содержащее глицерид линолевой кислоты. В корнях найдены хиноны - ройлеаноны.</p>
6.	<p>Календула лекарственная (Calendula officinalis)</p>	<p>Однолетнее травянистое растение высотой 50-70 см, стебли ветвистые. Листья очередные, сидячие или короткочерешковые, продолговатые,</p>	<p>Родина - Средиземноморье и Центральная Европа. Культивируются</p>	<p>В цветочных корзинках содержатся каротиноиды и флавоноиды (каротин, ликопин, виолаксантин, цитраксантин, рубиксантин, флавоксантин, флавохром). В соцветиях календулы имеются также</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>длиной до 13 см. Соцветия в виде корзинок диаметром 5-6 см. Цветки ложноязычковые и трубчатые, золотисто-оранжевые. Плоды развиваются только с язычковых цветков в виде сухих семян разной формы и размеров в одном и том же соцветии. Цветет с июня до заморозков, плоды начинают созревать в июле.</p>	повсеместно.	<p>полисахариды, полифенолы, смолы (около 3,4 %), слизь (2,5 %), азотсодержащие слизи (1,5 %), органические кислоты (яблочная, аскорбиновая и следы салициловой). В надземных частях растения найдено до 10 % горького вещества календена, имеющего ненасыщенный характер. Запах цветов и их фитонцидные свойства обусловлены наличием эфирного масла. Надземные органы растения содержат тритерпеновый сапонин, дающий при гидролизе олеаноловую и глюкуроновую кислоты. Установлено наличие тритерпеноидов арнидиола и фарадиола. В семенах содержится жирное масло, представленное глицеридами преимущественно лауриновой и пальмитиновой кислот. В семенах найдены алкалоиды. В корнях обнаружен инулин и ряд тритерпеновых гликозидов, являющихся производными олеаноловой кислоты.</p>
7.	Калина красная (<i>Viburnum opulus</i>)	<p>Кустарник, реже дерево, с серовато-бурой корой, покрытой продольными трещинами, высотой 1,5–4 метра. Растение листопадное. Доживает до 50 лет. Побеги округлые, иногда ребристые, голые, желтовато-бурые, иногда с красноватым оттенком. Почки с двумя сросшимися наружными чешуями, яйцевидные, немного заострённые, красновато-зелёные. Листья черешковые, супротивные, широкояйцевидные или округлые, длиной 5–10 см и 5–8 см шириной, трёх или пяти лопастные, остроконечные, с</p>	<p>Широко распространена в Европейской части России, кроме севера и юго-востока, на Кавказе и в Крыму, в Западной Сибири и Восточной Сибири (в бассейнах рек Енисея и Ангары, в юго-западном Прибайкалье).</p>	<p>В качестве лекарственного сырья используют плоды калины и кору калины. Кора содержит эфирное масло, органические кислоты (валериановая, муравьиная, уксусная, каприловая, капроновая, линоленовая); тритерпеноиды, алкалоиды, витамин С, фенолкарбоновые кислоты и их производные (хлорагеновая, неохлорагеновая, кофейная), производные о-дигидроксикоричной кислоты, лигнин, дубильные вещества, флавоноиды, высшие жирные кислоты: (миристиновая, пальмитиновая и др). В плодах имеются углеводы (сахароза, фруктоза, глюкоза), полисахариды, органические кислоты (изовалериановая и уксусная), тритерпеноиды (олеоноловая и хедерагеновая кислоты) и их</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>округлым клиновидным неглубоко-сердцевидным основанием. Цветки гетероморфные, с двойным околоцветником, собраны в плоские зонтиковидные 6–8 лучевые метёлки 5–8 см в диаметре. Плоды — овальные или шаровидные ярко-красные костянки диаметром от 8 до 10 мм, с крупной сплюснутой широкосердцевидной, почти округлой косточкой длиной 7–9 мм.</p>		<p>ацетильные производные, урсоловая кислота; стероиды, витамин С (до 0,09 %), каротин, фенолкарбоновые кислоты и их производные (хлорогеновая, неохлорогеновая), производные п-дигидроксикоричной кислоты; дубильные вещества, флавоноиды, самбуцин, высшие жирные кислоты (миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, арахиновая, бегеновая, лигноцереновая, цератиновая).</p>
8.	<p>Эвкалипт (Eucalyptus)</p>	<p>Эвкалипты - вечнозеленые, высокие быстрорастущие деревья с гладкой корой. У эвкалипта шарикового перидерма отслаивается и свисает длинными лентами. Этот вид достигает высоты 45 м. Благодаря способности поглощать огромное количество влаги и выделять ее в воздух, а также свойству черешков поворачивать листья ребром к солнцу эвкалипты являются деревьями-насосами и осушителями почвы. Листья эвкалипта шарикового обладают гетерофилией. Молодые листья супротивные, мягкие, покрыты слоем воска, сизого цвета, яйцевидно-сердцевидной формы. Характерный вид имеют старые листья - они кожистые, короткочерешковые, очередные, чаще серповидно изогнутые,</p>	<p>Родиной эвкалипта является Австралия и прилегающие к ней острова. Культивируется на Черноморском побережье Кавказа.</p>	<p>Листья эвкалипта содержат эфирное масло, флавоноиды и дубильные вещества. По ГФ XI содержание эфирного масла для цельного сырья эвкалипта шарикового допускается не менее 2,5 %, резаного - не менее 1,5 %, а для эвкалипта прутовидного - не менее 1 %. Содержание компонента эфирного масла - цинеола - должно быть не менее 60 %, а в эвкалипте прутовидном - не менее 45 %. Эфирное масло имеет вид легкоподвижной прозрачной бесцветной или желтоватой жидкости с запахом цинеола.</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>расположены перпендикулярно земле, поэтому деревья дают мало тени. Цветки крупные, с большим числом тычинок и малозаметным венчиком. Плод - коробочка с мелкими семенами. Другие виды эвкалипта (пепельного и прутовидного) отличаются более толстой, непадающей корой, меньшей высотой деревьев, большей морозоустойчивостью. Цветет осенью на 3-5-м году жизни. Семена созревают через 1-2 года. Эвкалипт прутовидный - наиболее распространенный вид.</p>		
9.	Ромашка (Matricaria)	<p>Однолетнее травянистое растение высотой 15-40 см. Стебель ветвистый, голый. Листья очередные, сидячие, дваждыперисторассеченные на узкие доли. Цветочные корзинки одиночные, крупные, расположены на концах стебля и ветвей. Корзинки имеют белые ложноязычковые цветки, расположенные по их краям, и многочисленные внутренние обополюе желтые цветки, расположенные на коническом голом внутриполом ложе. Корзинки сидят на длинных цветоносах, расцветают постепенно: в начале распускания ложноязычковые цветки направлены вверх, затем они располагаются</p>	<p>В диком виде произрастает на юге и в средней полосе европейской части страны, на Кавказе. Основные районы заготовок - Крым.</p>	<p>Цветочные корзинки содержат 0,2-0,8 % эфирного масла, в состав которого входит хамазулен. Эфирное масло представляет собой густую жидкость темно-синего цвета, труднорастворимую в воде. Синий цвет связан с наличием хамазулена. При хранении эфирного масла хамазулен окисляется кислородом воздуха и масло вначале становится зеленым, а затем бурым. Эфирное масло, кроме того, содержит сесквитерпены, кадинен, фарнезен, сесквитерпеновый спирт бизаболл, каприловую и изовалериановую кислоты.</p> <p>Из белых язычковых цветков соцветий ромашки выделен флавоновый гликозид апиин (дающий при гидролизе апигенин, глюкозу и апиозу), прохамазулен матрицин и лактон матрикарин (при высокой температуре оба эти вещества превращаются в хамазулен), диоксикумарины, умбеллиферон и его</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		горизонтально и ложе вытягивается. Плод - семянка. Все растение душистое. Цветет с мая до июля, плодоносит с июня.		метилловый эфир герниарин, триакантин, холин, фитостерин, салициловую кислоту, аскорбиновую кислоту, каротин, горечи, слизи, камеди. Кроме того, присутствуют горькие вещества. Содержание эфирных масел в надземной массе (траве) достигает 0,37 %. Основными компонентами масла являются мирцен и фарнезен, присутствуют также флавоноиды.
10.	Чабрец (Thymus)	Многолетний стелющийся по земле сильноветвистый полукустарничек высотой до 15 см, образующий густые дерновники. Фиолетово-красные цветки собраны головками на концах веточек. Листья чабреца отличаются от тимьяна обыкновенного: они тоже мелкие, но плоские и края не загнуты. При основании листа заметны длинные волоски. Плод состоит из 4 орешков. Все формы полиморфного вида - чабреца - отличаются незначительно и допущены к заготовке. Растение душистое. Цветет в июне-июле, плодоносит в августе-сентябре.	Лесная и лесостепная зоны европейской части страны, Западная Сибирь, Забайкалье. В степях встречаются большие заросли на много гектаров.	Трава содержит до 1 % эфирного масла, основным компонентом которого является тимол (до 30 %). Кроме того, эфирное масло содержит карвакрол, п-цимол, у-терпинен, а-терпинеол, борнеол. В траве обнаружены также дубильные вещества, горечи, камедь, тритерпеновые соединения - урсоловая и олеаноловая кислоты, флавоноиды, большое количество минеральных солей.
11.	Розмарин лекарственный (Rosmarinus officinalis)	Многолетнее травянистое растение. Корневище многоглавое, короткое, деревянистое, с ветвистыми, мясистыми, беловатыми корнями. Стебли высотой до 150 см, слабоветвистые, прямостоячие. Листья очередные, черешковые, простые, обычно трех-,	В лесостепной и степной зонах, на Кавказе, юге Западной Сибири. Промысловая культура в Краснодарском крае.	В сухих корнях алтея содержится до 35 % слизистых веществ, основными ингредиентами которых являются полисахариды - пентозаны и гексозаны, дающие при гидролизе пентозу, галактозу и декстрозу. Корни содержат также до 37 % крахмала, 2 % I-аспарагина, 8 % сахаров, 11-16 % пектина, 1,7 % жирного масла, бетаин, каротин, фитостерины, минеральные вещества, много крахмала, уроновые

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>пятилопастные, к верхушке более простые. Цветки розовые, крупные, собраны в верхней части стебля в колосовидное соцветие. Венчик пятираздельный, лепестки округлые. Пестик с верхней завязью и заключен в трубочку сросшихся тычиночных нитей. Тычинки фиолетовые. Чашечка двойная, внутренних лепестков 5, наружных - 9-12. Плод - дробный, распадающийся на отдельные односеменные плодики. Все растение имеет мягко-бархатистое опушение. Цветет в июне-июле, плодоносит в сентябре-октябре. Разрешается к применению алтей армянский. Цветки бледно-розовые.</p>		<p>кислоты, минеральные соли. Трава также богата полисахаридами.</p>
12.	<p>Хвощ полевой (<i>Equisetum arvense</i>)</p>	<p>Многолетнее споровое растение с членистыми стеблями, зубчатыми влагалищами на узлах. Ранней весной появляются сочные, прямостоящие толстые стебли высотой 7-25 см, светло-бурого или розового цвета, заканчивающиеся наверху колоском со спорами. Разбросав споры, стебельки быстро отмирают. Из того же корневища вырастают бесплодные вегетативные тонкие стебли высотой 10-50 см, зеленого цвета, с безлистными многочисленными ветвями,</p>	<p>Вся территория страны, встречается даже в Арктике.</p>	<p>Трава хвоща полевого содержит алкалоиды (эквизетин, никотин, 3-метоксипиридин), сапонин эквизетонин (около 5 %), флавоноиды, органические кислоты (аконитовая, яблочная, щавелевая), жирное масло (3-3,5 %), эфирное масло, большое количество солей кремниевой кислоты, растворимых в органических соединениях, горечи, дубильные вещества, смолы и полиоксиантрахиноновые соединения. Найдены также небольшие количества аскорбиновой кислоты и каротина.</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		расположенными мутовками. Вместо листьев в узлах ветвей имеются зубчатые влагалища. Все растение жесткое и шершавое, так как пропитано кремневой кислотой.		
13.	Пихта (Abies)	С пирамидально-конусовидной кроной до 30 м высоты. Хвоя душистая, плоская, мягкая, неколючая. Шишки вверх направленные, 5-9 см в длину. «Цветет» в конце мая - начале июня, семена созревают в августе, осыпаются в сентябре-октябре.	Лесообразующая порода некоторых типов тайги. Пихта сибирская распространена на северо-востоке европейской части, на Урале, в Западной и Восточной Сибири.	Охвоенные концы ветвей («пихтовая лапка») пихты сибирской содержат до 3 % эфирного масла, состоящего наполовину из борнилацетата (30-60 %), а также борнеола, камфена, а- и b-пинена и др. Свежая хвоя содержит до 0,32 % аскорбиновой кислоты, флавоноиды (рутин, кверцетин), хлорофилл, феофитин (безмагниево производное хлорофилла), каротиноиды, витамин Е, стерины и фитонциды. Выход эфирного масла из охвоенных побегов пихты белокорой составляет 2,5 %. Среди монотерпенов в нем преобладают а-пинен (28 %), b-пинен и мирцен; в высококипящей фракции преобладают борнилацетат (25 %) и хамазулен. Содержащийся в пихтовом масле D3-карен, по мнению некоторых исследователей, может вызывать аллергию и дерматит, поэтому необходимо строго соблюдать технологию выгона, что позволяет регулировать количество этого вещества.
14.	Ель (Picea)	Высокое дерево (20-50 м) с остроконусовидной кроной. Кора красно-бурая или серая, шелушащаяся тонкими чешуями; молодые ветви бурые или рыжеватые, голые или слегка опушенные с сильно выступающими листовыми следами, почки яйцевидно-конические, заостренные,	Распространена ель обыкновенная по всей лесной зоне Европейской России, образуя чистые и смешанные леса. В Предуралье постепенно замещается близким	Эфирные масла, витамин С, дубильные вещества, смолы, минеральные соли, фитонциды.

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		<p>буроватые. Листья (хвоя) четырехгранные, остроконечные, блестящие, ярко- или темно-зеленые, длиной 20-25 мм, шириной 1-1,5 мм, густо покрывают ветки.</p> <p>Пыльниковые шишки удлинено-цилиндрические, длиной 20-25 мм, у основания окружены светло-зелеными чешуйками. Семенные шишки висячие, сначала красные, затем зеленые, зрелые - буреющие, длиной 10-16 см, шириной 3-4 см. Семенные чешуи деревянистые, желтые, обратнойцевидные, выпуклые, по краю выемчатые, зубчатые; кроющие чешуи расположены у основания семенных, у зрелых шишек - в виде едва заметных кожистых пленок. Семена темно-бурые, с крылом в 3 раза длиннее их. Опыление происходит в мае-июне.</p>	<p>видом - елью сибирской (<i>Picea obovata</i> Ledeb.), лесообразующей породой уральской и сибирской тайги.</p>	
15.	Можжевельник (<i>Juniperus</i>)	<p>Вечнозеленый кустарник высотой до 2- 3 м, реже небольшое деревце с игольчатыми листьями, расположенными мутовчато по 3. Растение двудомное. Мужские шишки желтые, мелкие. Женская шишка состоит из нижних кроющих чешуй и трех верхних плодущих, на которых имеется по одной семяпочке. После оплодотворения</p>	Почти повсеместное.	<p>Во всех органах растения содержится эфирное масло, мало отличающееся по составным частям. Содержание эфирного масла в шишкоягодах составляет 0,5-2 %, стеблях - 0,25 %, хвое - 0,18 %, коре - 0,5 %. Эфирное масло в основном содержит d-а-пинен, кадинен, камфен, а-терпинен, а-фелландрен, дипентен, сабинен, терпинеол, борнеол, изоборнеол, цидрол и др. Кроме того, в шишкоягодах содержится инвертный сахар (до 40 %), около 9,5 % смол, пигмент - юниперин, жирное масло, органические</p>

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		плодущие чешуйки разбухают, становятся мясистыми и срастаются, образуя плод - шишко-ягоду. Плоды вначале зеленые, после созревания - черные с сизым восковым налетом. Цветет весной, плоды созревают на второй год осенью.		кислоты (яблочная, муравьиная, уксусная), смолистые вещества. Кора содержит до 8 % дубильных веществ; хвоя - 266 мг % аскорбиновой кислоты.
16.	Сосна (Pinus)	Хвойное дерево, достигающее 35-40 м высоты, имеет прямой ствол с округлой кроной, а в молодых посадках с пирамидальной. Иглы расположены попарно. Шишки удлинённо-яйцевидные, серые, матовые. Цветет в мае. Семена созревают на второй год.	Почти повсеместно. В настоящее время большинство сосновых лесов в лесостепных и степных районах европейской части страны являются искусственными посадками.	Почки сосны содержат эфирное масло (0,36 %), составными частями которого являются пинен, лимонен, борнеол, борнилацетат, кадинен; смолы, крахмал, дубильные вещества, горькое вещество (пиницикрин). В хвое найдены аскорбиновая кислота, каротин, витамины группы В, пантотеновая кислота (3,8-13,7 мкг/г), антоциановые соединения, накапливающиеся больше зимой и ранней весной, около 5 % дубильных веществ, алкалоиды. Живица (терпентин обыкновенный) содержит до 35 % эфирного масла, в составе которого обнаружены пинен, карен, дипентен и др. В состав эфирного масла входят также смоляные кислоты. Путем перегонки живицы получают очищенный скипидар (масло терпентинное). Деготь - продукт сухой перегонки древесины сосны, представляет собой черно-бурую тяжелую жидкость с характерным запахом. Содержит фенол, толуол, ксилол, смолы.
17.	Лаванда (Lavandula)	Вечнозелёный, сероватый от опушения полукустарник высотой 30—60 (100) см, с сильным запахом. Корень стержневой, деревянистый, в верхней части ветвистый. Плод состоит из четырёх орешков, заключённых в остающуюся	Родиной считается французское и испанское побережье Средиземного моря; натурализовано повсеместно в Европе, Северной	Все части растения содержат эфирное (лавандовое) масло: листья — до 0,4 %, стебли — до 0,2 %, значительное количество его накапливается в соцветиях — 3,5—4,5 % (по другим данным, 0,8—1,6 %). Главной составной частью масла (30—60 %) являются сложные эфиры спирта L-линалоола и кислот (уксусной, масляной, валериановой и

№ п/п	Название	Ботаническое описание	Географическое распространение	Химический состав
		чашечку.	Африке и Северной Америке. В России произрастает на Черноморском побережье Кавказа, Крым.	капроновой). Кроме того, в нём обнаружены цинеол, гераниол, борнеол и др. В цветках содержатся также дубильные вещества (до 12 %), горечи и смолы, урсоловая кислота, кумарин, герниарин. Кумарин и герниарин в процессе гидродистилляции перегоняются одновременно с эфирным маслом.