

На правах рукописи



АЛИМОВ АЛЕКСАНДР ВИКТОРОВИЧ

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

14.02.02 – эпидемиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Пермь – 2020

Работа выполнена в Екатеринбургском научно-исследовательском институте 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

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Акимкин Василий Геннадьевич

доктор медицинских наук, профессор

Фельдблюм Ирина Викторовна

Официальные оппоненты:

Иванова Ольга Евгеньевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела полиомиелита и других энтеровирусных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН».

Малышев Владимир Васильевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Троценко Ольга Евгеньевна – доктор медицинских наук, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Ведущая организация:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Защита диссертации состоится «25» февраля 2021 года в 10-00 час. мин. на заседании диссертационного совета Д 999.128.02 Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д.26.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.frisk.ru ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и в библиотеке ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д.26), с авторефератом на сайтах www.frisk.ru и www.vak.minobrnauki.gov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент

Землянова Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 (Иванова О.Е. и др., 2010; Брико Н.И., 2006; Троценко О.Е. и др., 2018). Значимость ЭВНИ определяется высокой интенсивностью эпидемического процесса, повсеместным распространением, высокой долей вспышечной заболеваемости, контагиозностью, значительной летальностью, разнообразием клинических форм и проявлений (Ворошилова М.К., 1979; Канаева О.И., 2014; Thao, N. et al., 2017), многообразием и высокой изменчивостью возбудителей (Голицина Л.Н., Зверев В.В. и др., 2015; Сергеев А.Г. и др., 2017; Lukashev A.N. et al., 2005; Nasri D. et al., 2007), их широкой диссеминацией среди населения в силу высокой устойчивости неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) во внешней среде (Сергеев В.И. и др., 2018; Harvala H. et al., 2018), отсутствием средств специфической профилактики (Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., 2016; Акимкин В.Г., Шестопапов Н.В., 2014).

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 (Robinson C.M. et al., 2017), 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 (Домашенко О.Н. и др., 2018).

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, а также 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) (Малышев В.В. и др., 2018; Bisseux, M. et al., 2018). 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 (Bubba L. et al., 2020). 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 (Сергеев А.Г. и др., 2015; Ivanova O.E. et al., 2019).

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.

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, с целью воздействия на механизм, факторы и пути передачи инфекции (Акимкин В.Г., 2012; Демина А.В. и др., 2008). В этой связи, разработка новых препаратов для сезонной и экстренной химиопрофилактики, средств и способов дезинфекции и антисептики является приоритетной задачей. 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 (Munsell E. V. et al., 2016). 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 ресурсы, сохранить здоровье персонала. Одним из перспективных направлений в этой области исследований считают разработку кожных антисептиков на основе растительного сырья (Ложкина О.В. и др., 2008). 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 снижению заболеваемости ЭВНИ, но и сохранению окружающей среды для наших потомков.

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., Сергеев 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.

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 Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». 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 общем 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 малоинформативно. Определена индикаторная группа населения, «здоровые» дети от 3-х до 6-ти лет, позволяющая прогнозировать этиологию заболевания при энтеровирусных менингитах, обусловленных возбудителями ECHO 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

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 "полувлеченной" 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.

Методология и методы исследования

Генеральная идея представленного научного исследования включает последовательное применение методов научного познания для решения определенных рамок 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. 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 ЕСНО 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.

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 %.

Внедрение результатов исследования

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 Федеральных 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 Уралосибирского научно-методического центра по изучению энтеровирусных инфекций Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (11 территорий Уральского Федерального округа и Западной Сибири с населением более 23 млн. чел.).

Степень достоверности и апробация результатов работы

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).

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.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют пунктам 2,5,6 паспорта специальности 14.02.02 - эпидемиология.

Публикации

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.

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.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обозначены актуальность проблемы энтеровирусных (неполио) инфекций на современном этапе и разработанность темы диссертационного исследования, поставлена основная цель работы, определены задачи, установлена научная новизна, показаны теоретическая и практическая значимость, описаны методология и методы, даны основные выносимые на защиту положения диссертации, степень достоверности работы, апробация результатов, перечень публикаций по теме, также представлены структура и объем рукописи, личный вклад автора в выполнение исследований.

Первая глава посвящена обзору научной литературы об общемировых тенденциях эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции, в том числе даны клинико-эпидемиологическая характеристика ЭВНИ и современное состояние организации эпидемиологического надзора и контроля.

Во второй главе представлены материалы и методы исследования, использованные при выполнении диссертационной работы, которая 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» и предусмотрена п. 1.5.2. (рег. номер в ЕГИС НИОКР АААА-А16-116061710036-0) и п. 3.1.11. (рег. номер в ЕГИСУ НИОКР АААА-А16-116061710033-9) программы. Диссертационное исследование носило комплексный многоэтапный характер.

Объем объектов наблюдения и объем лабораторных исследований представлены в Таблице 1 и Таблице 2.

Таблица 1. Объем объектов наблюдения для анализа заболеваемости энтеровирусными инфекциями

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 форм статистического наблюдения:	911

Таблица 2. Объем лабораторных исследований

Виды исследования	Количество
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 ЭВНИ в Уральском федеральном округе и Западной Сибири	1924
Генотипирование НПЭВ, выделенных из клинического материала от больных ЭВНИ в Уральском федеральном округе и Западной Сибири	1529
Всего исследований:	9 605

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 ECHO11 (431-1 и 431-6) в эксперименте с одиночным циклом репродукции в присутствии роданина и нистатина, а также без роданина и нистатина проведено 18 серий экспериментов. При изучении антибактериальной активности экстрактов растительных веществ природного происхождения - кандидатов к

использованию в качестве антисептических средств с тест-штаммом *Escherichia coli* (ATCC-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, с вакцинным штаммом полиовируса 1 типа Sabin (LSc-2ab) - 12 экспериментальных исследований. Эффективность нового способа аэрозольной дезинфекции с тест-культурой *Staphylococcus aureus* (ATCC-960) и с вакцинным штаммом полиовируса 1 типа Sabin (LSc-2ab) - 20 экспериментальных исследований. *Всего 74 серии научных экспериментов.*

В работе применены общенаучные подходы и специальные методы: эпидемиологические, математическое моделирование, лабораторные (вирусологические, молекулярно-генетические, санитарно-микробиологические, экспериментальные), филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ, статистические.

Эпидемиологические методы. В ходе ретроспективного эпидемиологического анализа изучены абсолютные показатели заболеваемости населения, интенсивные показатели заболеваемости (случаев на 100 тысяч населения), интенсивность эпидемического процесса, многолетняя и внутригодовая динамика, структура ЭВНИ по клиническим формам, возрастным группам, а также распределение заболеваемости по административным территориям и по группам территорий с различным уровнем заболеваемости. 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 всего населения Российской Федерации. 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). Внутригодовую динамику заболеваемости ЭВНИ оценивали на основании помесечного распределения случаев заболеваний на территории Российской Федерации в период наблюдения с 2013 г. по 2019 г. Для анализа временных рядов ежемесячной заболеваемости использовали классическую сезонную декомпозицию, метод Census I. Возрастную структуру ЭВНИ в многолетней динамике заболеваемости среди детей и взрослых рассматривали за период с 2010 г. по 2019 г. Анализ заболеваемости отдельными клиническими формами ЭВНИ проводили для Российской Федерации с 2006 г. по 2018 г., для территорий Уральского федерального округа и Западной Сибири с 2006 г. по 2019 г. Сравнения проводили в пределах совпадающих периодов. Определение групп риска проводили в сравнительных исследованиях при помощи расчёта отношения рисков, сравнение групп риска осуществляли путём сопоставления доверительных интервалов.

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: $y = b x^a$;
- 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». Для оценки выраженности тенденций эпидемического процесса в многолетней динамике использовали также показатели среднегодового темпа прироста. 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.

Лабораторные методы. Отбор проб и первичный посев образцов биологического материала от пациентов и с объектов внешней среды проводили традиционными методами, согласно нормативно-методических документов. Предварительное тестирование собранных образцов на НПЭВ проводили в условиях лабораторий Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора 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). Выделение нуклеиновых кислот производилось с использованием комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб». Генетическая структура циркулировавших 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, предложенному F. Sanger. Для проведения двух раундов полувложенной ПЦР до 2017 г. использовали праймеры для наиболее консервативных участков генома НПЭВ. 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. Амплификацию и флуоресцентно-гибридизационную детекцию в режиме реального времени осуществляли на термоциклере MyCycler Thermal Cycler (Bio-Rad Life Science Group). Для проведения вирусологических исследований (оценка инфекционной активности вирусов с клеточными рецепторами в процессе интернализации) в работе использовали

два клона НПЭВ серотипа ECHO 11, относящегося к виду Enterovirus В рода Enterovirus семейства Picornaviridae порядка Picornavirales. Клеточные культуры рабдомиосаркомы (RD) получены из музея клеточных культур ФБУН «ЕНИИВИ» Роспотребнадзора. Клетки выращивали в культуральных пластиковых флаконах (Corning-Costar, США). В качестве среды роста использовали среду 199 (ПанЭко, РФ) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (Biosera, Франция), а также среду 199 без добавления сыворотки в качестве поддерживающей среды при репродукции вирусов. Испытания растительных субстанций в качестве кандидатов дезинфекционных (антисептических) средств и исследование бактерицидной и вирулицидной эффективности систем вентиляции осуществляли согласно Руководству «Р 4.2.2643-10 Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство» (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010). Для определения антимикробной активности растительных субстанций в качестве тест-культур использовали штамм Escherichia Coli (ATCC-1257) и полиовирус 1 типа Sabin - LSc-2a, для оценки метода дезинфекции системы вентиляции тест-штаммы Staphylococcus aureus (ATCC-906) и полиовирус 1 типа Sabin - LSc-2a.

Филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ.

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

Статистические методы. 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 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. 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.

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

В третьей главе дана характеристика эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации и его особенности при различных уровнях интенсивности

На первом этапе работы проведен анализ заболеваемости 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 (

Рисунок 1).

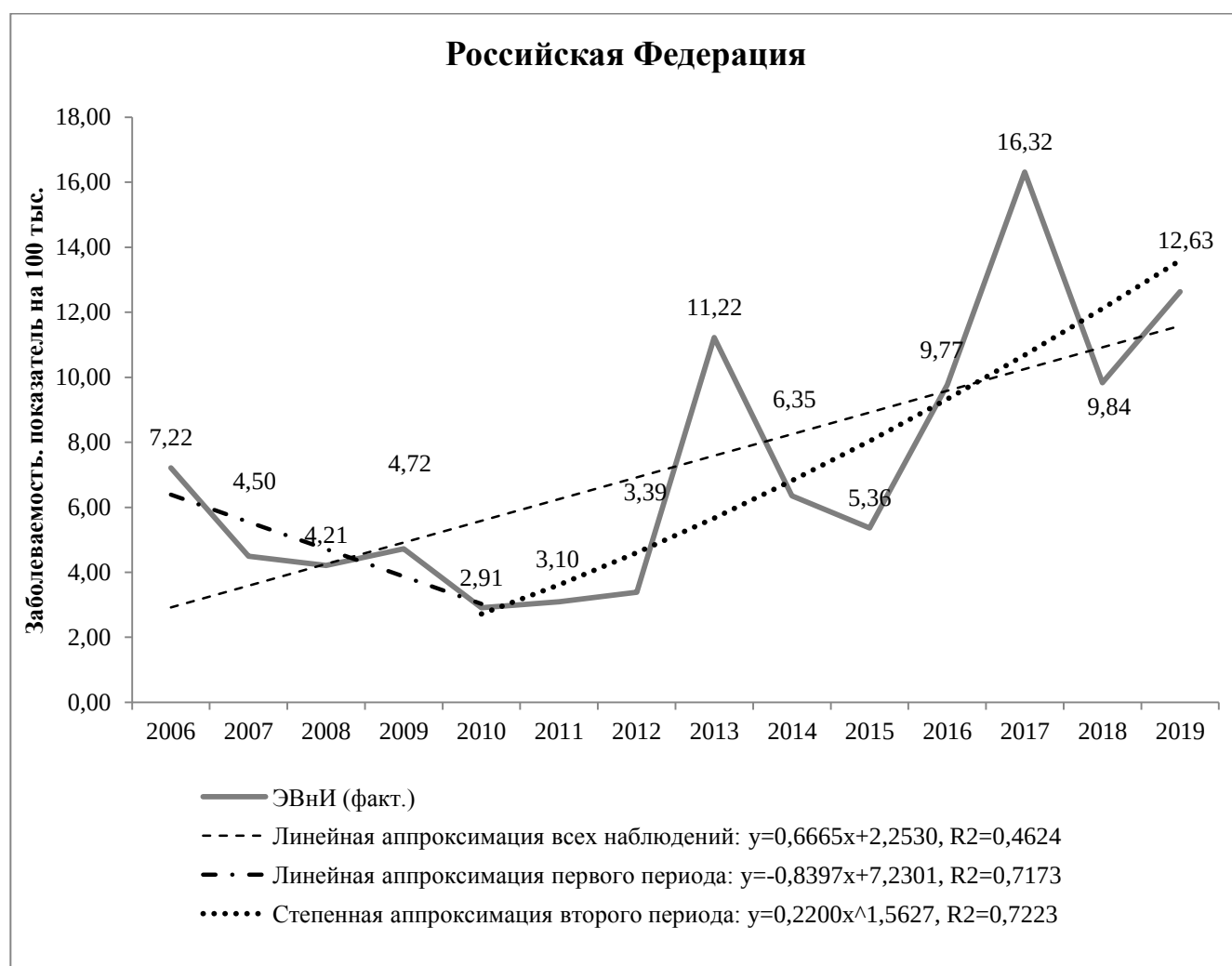


Рисунок 1. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2006-2019 гг.), сл. / 100 тыс.

Среднемноголетний уровень заболеваемости по официальным данным составил 7,25 ‰, среднегодовой темп прироста - 4,4 % (угол наклона линейного тренда 34 %). Пикового значения показатель достиг в 2017 г. (16,32 ‰), минимального уровня – в 2010 (2,91 ‰).

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 (2006-2010 гг. и 2010-2019 гг.). При этом, временной отрезок с 2010 г. по 2019 г. наиболее оптимально соответствовал уровню заболеваемости по степенной аппроксимации (Таблица 3).

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

Таблица 3. 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 установил, что среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВНИ в РФ был выше рассчитанного ранее показателя и составил 8,09 ‰, 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. Сравнительная характеристика 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 %) определила 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 динамики заболеваемости, прежде всего, при ее неравномерном распределении по годам.

При изучении цикличности заболеваемости ЭВНИ с использованием спектрального анализа Фурье нами была выявлена 4-х летняя периодичность. Подъёмы заболеваемости зарегистрированы в 2009 году (4,72 ‰), в 2013 г. (11,21 ‰) и в 2017 г. (16,31 ‰), при этом каждый последующий подъём превышал предыдущий. Локальные минимумы заболеваемости регистрировали в 2010 г. (2,91 ‰), в 2014 г. (6,35 ‰), 2015 г. (5,36 ‰), также с периодичностью в 4 года.

Заболеваемость 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 (Рисунок 2).

Эпидемический порог с января по май не превышал $0,443 \text{ ‰}$, его минимальное значение пришлось на апрель - $0,178 \text{ ‰}$, максимальное на июнь - $0,575 \text{ ‰}$ и декабрь - $0,503 \text{ ‰}$.

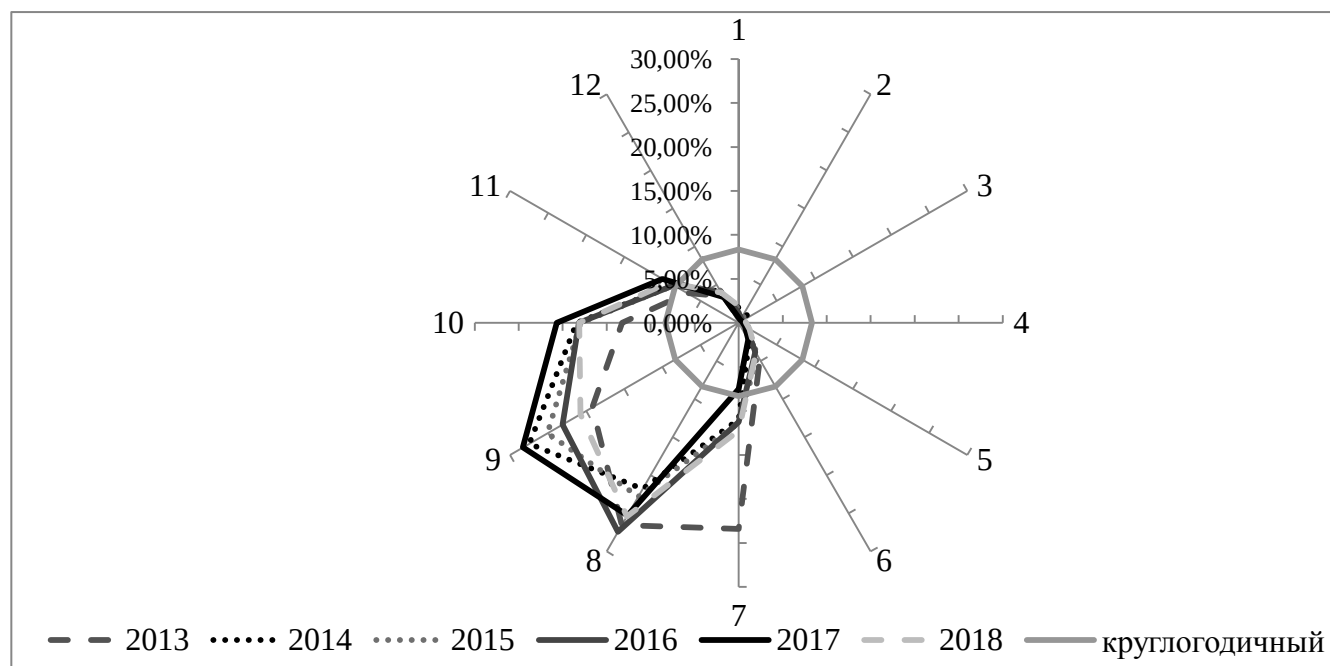


Рисунок 2. Внутригодовая динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации, в долях от заболеваемости за год, 2013-2018 гг., в лучах линейно-круговой диаграммы месяцы с января (1) по декабрь (12).

При оценке очаговости было установлено, что с 2006 г. по 2018 г. из 128 820 выявленных случаев ЭВНИ - 9 845 случаев пришлось на пострадавших из очагов групповой заболеваемости с 3-мя и более случаями (492 очага), что составило 7,6 %.

Показатель заболеваемости в очагах соответствовал $0,52 \text{ ‰}$, максимальный зарегистрирован в 2017 году - $1,66 \text{ ‰}$, минимальный в 2012 - $0,13 \text{ ‰}$ (Рисунок 3).

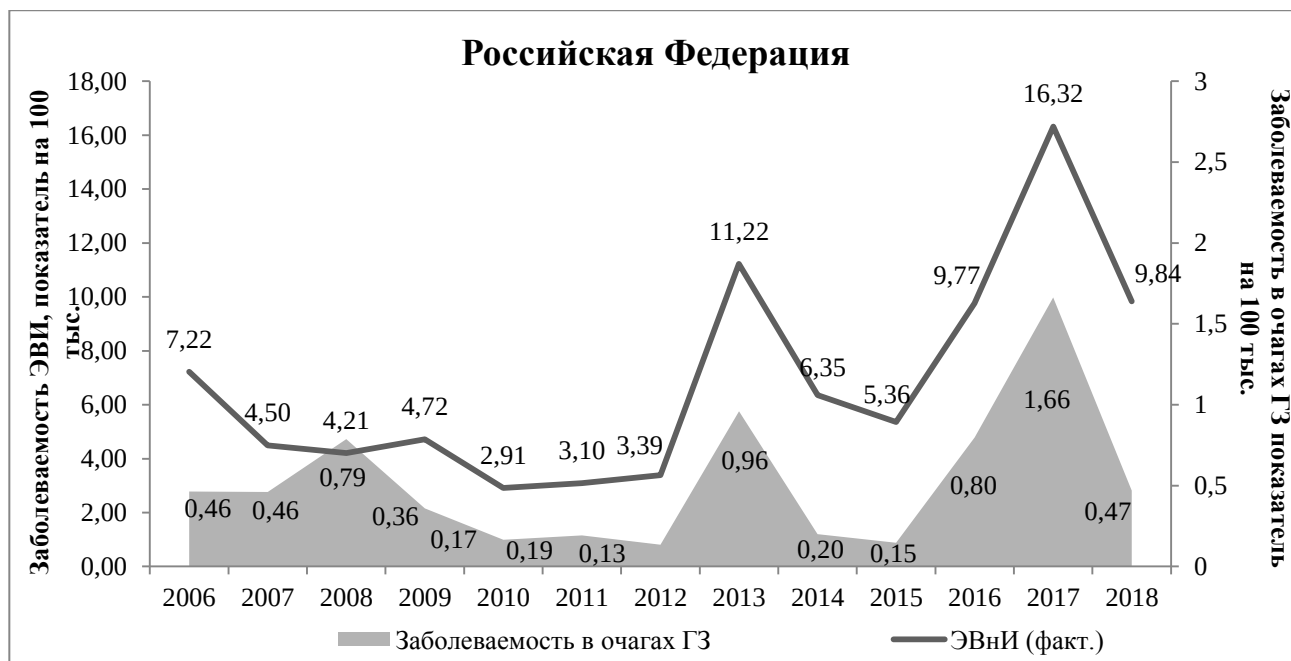


Рисунок 3. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией в Российской Федерации (2006 - 2018 гг.) в целом и заболеваемости, обусловленной очагами с 3-мя и более случаями, сл. / 100 тыс.

Многолетняя динамика заболеваемости в очагах с 3-мя 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. Имела место сильная прямая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена составил $R_s = 0,813$, при $p = 0,0007$) между долей лиц, вовлеченных в эпидемический процесс с общим числом случаев ЭВНИ.

Группой риска явились дети (Рисунок 4) со среднемноголетним уровнем заболеваемости 70,83 ‰ и среднегодовым темпом прироста 18,7 %. Среднемноголетний уровень заболеваемости среди взрослых был существенно ниже и составил 0,87 ‰, среднегодовой темп прироста - 8,9 %.

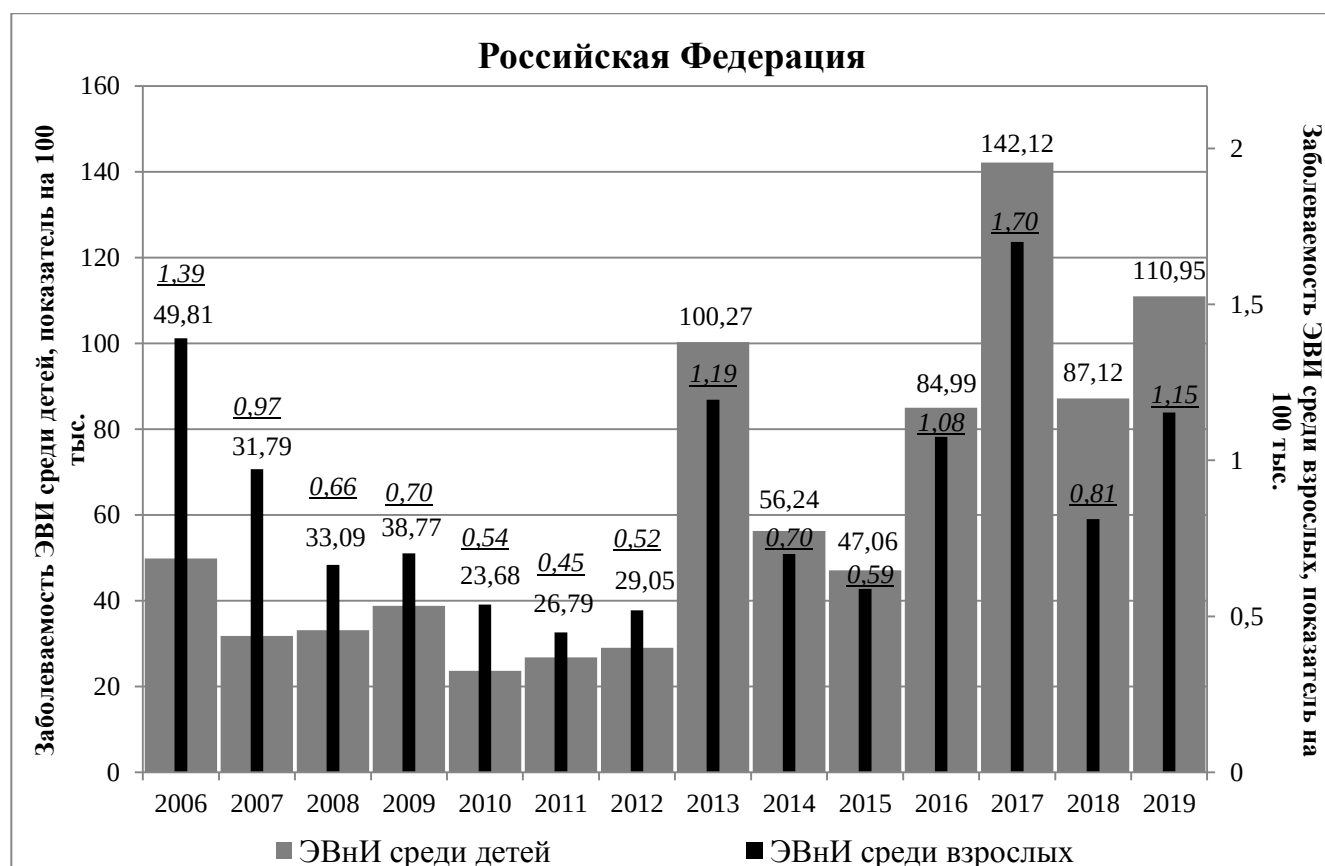


Рисунок 4. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией среди детей и взрослых в Российской Федерации (2006-2019 гг.), сл. / 100 тыс.

В возрастной структуре доля детей составила 89,0 %, относительный риск возникновения ЭВИ среди детского населения был 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. ($1,70 \text{ ‰}$) был в 83,6 раз ниже аналогичного показателя среди детей ($142,12 \text{ ‰}$). Многолетняя тенденция заболеваемости ЭВИ среди взрослых не имела достоверных отличий от многолетней тенденции среди детей, динамические ряды помесечной динамики заболеваемости между группами имели тесную корреляционную связь ($k = 0,97$).

Низкий уровень заболеваемости ЭВИ среди взрослых, очевидно, обусловлен их невосприимчивостью к инфекции в силу ранней встречаемости с НПЭВ (в детстве), а также с низкой обращаемостью лиц старше 18 лет за медицинской помощью при легких клинических формах и отсутствием точных диагностических критериев ЭВИ (безусловного и вероятного определения случая) в Федеральных клинических стандартах диагностики и лечения.

Пики заболеваемости ЭВИ 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 относительно взрослого населения. 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 за изучаемый период составил 2,50 ‰ со среднегодовым темпом снижения – 0,3 %. Пик заболеваемости имел место в 2013 г. (5,00 ‰) не совпадал с пиком заболеваемости ЭВНИ в целом (2017 г. – 16,32 ‰). Отметим, что начиная с 2009 года (Рисунок 5), 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.

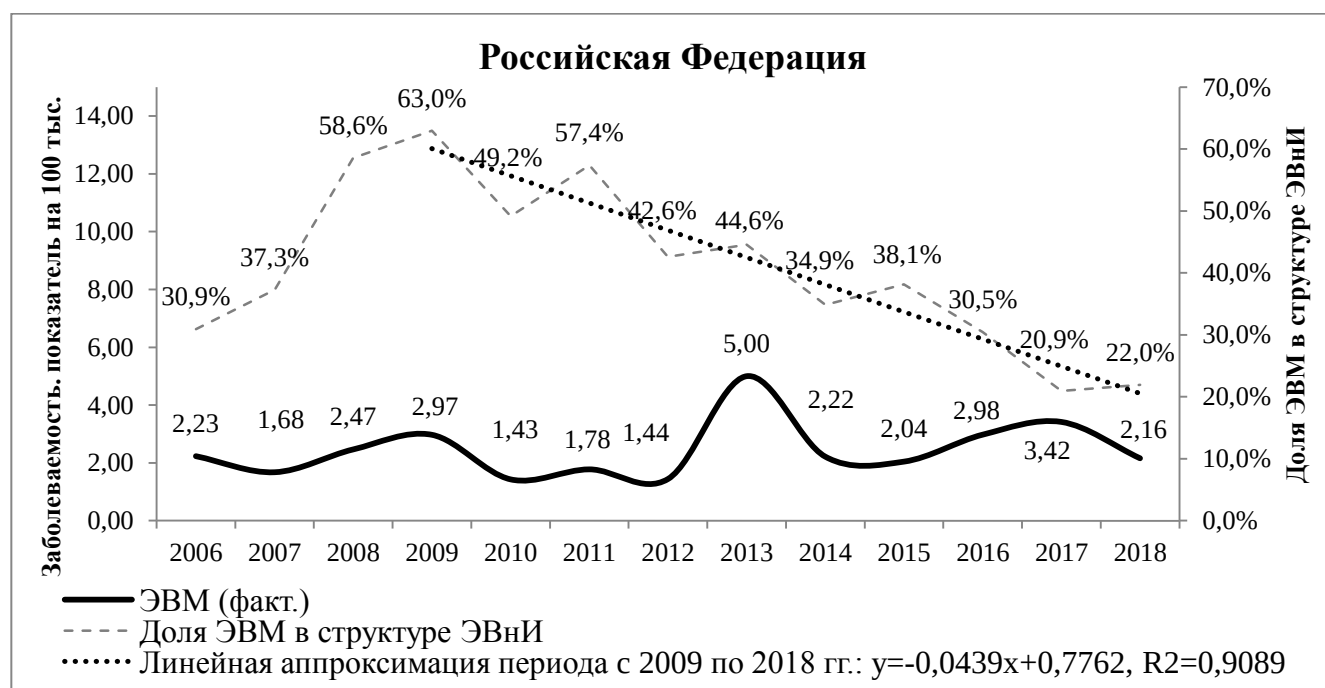


Рисунок 5. Многолетняя динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом (сл. / 100 тыс.) и доли лиц с энтеровирусным менингитом в общей структуре заболеваемости энтеровирусной (неполио) инфекцией (в %) в Российской Федерации (2006-2018 гг.).

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, эпидемический процесс по ЭВНИ в РФ за период 2006-2019 гг. 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 уровня 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 интенсивности эпидемического процесса, были отобраны субъекты Уральского Федерального округа и Западной Сибири 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 двух 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 %) 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 общей очаговости - 34,8, что было в 2,0 и 1,7 раза выше показателей по РФ (7,6 % и 20,0). Среднемноголетний

уровень заболеваемости ЭВМ на этих территориях соответствовал 9,13 ‰ и превышал аналогичный показатель по РФ (2,45 ‰) 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 ‰, $\sigma = 3,96$ ‰), также как динамика заболеваемости в целом по РФ и на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса имела ярко выраженную 4-х 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 ‰, среднегодовой темп прироста 8,6 %.

Среднемноголетний уровень заболеваемости ЭВМ на этих территориях составил 3,29 ‰, 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 при регистрации. Это предположение подтверждал и тот факт, что относительный риск заболеть ЭВМ в этой группе 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 в его качественных проявлениях (Таблица 4).

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 лиц в очагах с неединичными случаями в структуре заболеваемости в целом (превышение в 5,4 раз) и показатель общей очаговости (превышение в 22,5 раза).

Таблица 4. Основные показатели эпидемического процесса энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с высоким и низким уровнем заболеваемости

Показатель	Российская Федерация	Уровень заболеваемости на территории	
		высокий	низкий
Средний многолетний показатель заболеваемости (‰)	8,09	26,15	5,53
Темп прироста (%)	+ 17,7	+ 31,1	+ 4,8

Продолжение Таблицы 4

Показатель	Российская Федерация	Уровень заболеваемости на территории	
		высокий	низкий
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
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 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 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

Изложенное выше, позволяет рассматривать эти проявления эпидемического процесса, как признаки прогностического эпидемического неблагополучия, которые могут быть использованы в предэпидемической диагностике ЭВНИ и диктуют необходимость своевременно выявлять очаги с неединичными случаями заболевания, осуществлять в них качественную эпидемиологическую диагностику и проводить обоснованные противоэпидемические и профилактические мероприятия.

Обращает внимание, что на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса регистрируют 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 °/0000, СМУ ЭВМ = 2,50 °/0000), на территориях с высокой интенсивностью эпидемического процесса - 34,9 % (при СМУ общ = 26,15 °/0000, СМУ ЭВМ = 9,13 °/0000), на территориях с низкой интенсивностью

эпидемического процесса – 59,5 % (при СМУ общ = 5,53 ‰₀₀₀₀, СМУ ЭВМ = 3,29 ‰₀₀₀₀). Среднегодовое количество случаев заболевания ЭВМ на территориях с низкой интенсивностью эпидемического процесса в 1,32 раза превысил среднероссийский уровень (3,29 ‰₀₀₀₀ против 2,50 ‰₀₀₀₀) и имел выраженную тенденцию к росту (11,2 %) против стабилизации показателя по РФ (-0,3) и оказался выше показателя на «неблагополучных» территориях (2,8 %). Территории, характеризующиеся низким уровнем заболеваемости ЭВМ и высоким уровнем заболеваемости ЭВМ, на наш взгляд, могут быть отнесены к территориям «мнимого благополучия». Следовательно, объективная оценка эпидемиологической ситуации по ЭВМ 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 ЭВМ и ЭВМ с оценкой тенденции в многолетней динамике. В целях выявления скрытой компоненты эпидемического процесса необходима разработка стандартного случая ЭВМ и внедрение современных методов лабораторной диагностики с детальным изучением биологического фактора.

В четвертой главе изучена этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции на территориях с различной интенсивностью эпидемического процесса, при различных клинических формах и в отдельных возрастных группах населения. Проведен анализ циркуляции отдельных серотипов энтеровирусов за три года (2017-2019 гг.) в разрезе территорий с высоким и низким уровнем заболеваемости. Изучены пробы клинических материалов (ликвор, кровь, фекалии, смывы из носоглотки) от пациентов с установленным диагнозом ЭВМ (1147 человек), и контактных лиц из очагов (36 человек). Количество изученных штаммов НПЭВ, составило 1183, из эпидемических очагов с 1-2 случаями – 639, из очагов с 3-мя и более случаями – 544. 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 существенное место занимали серотипы Coxsackievirus A6, Echovirus E30, Coxsackievirus A16, Echovirus E18, Coxsackievirus B5 и 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 – (28,0 %) (Рисунок 6).

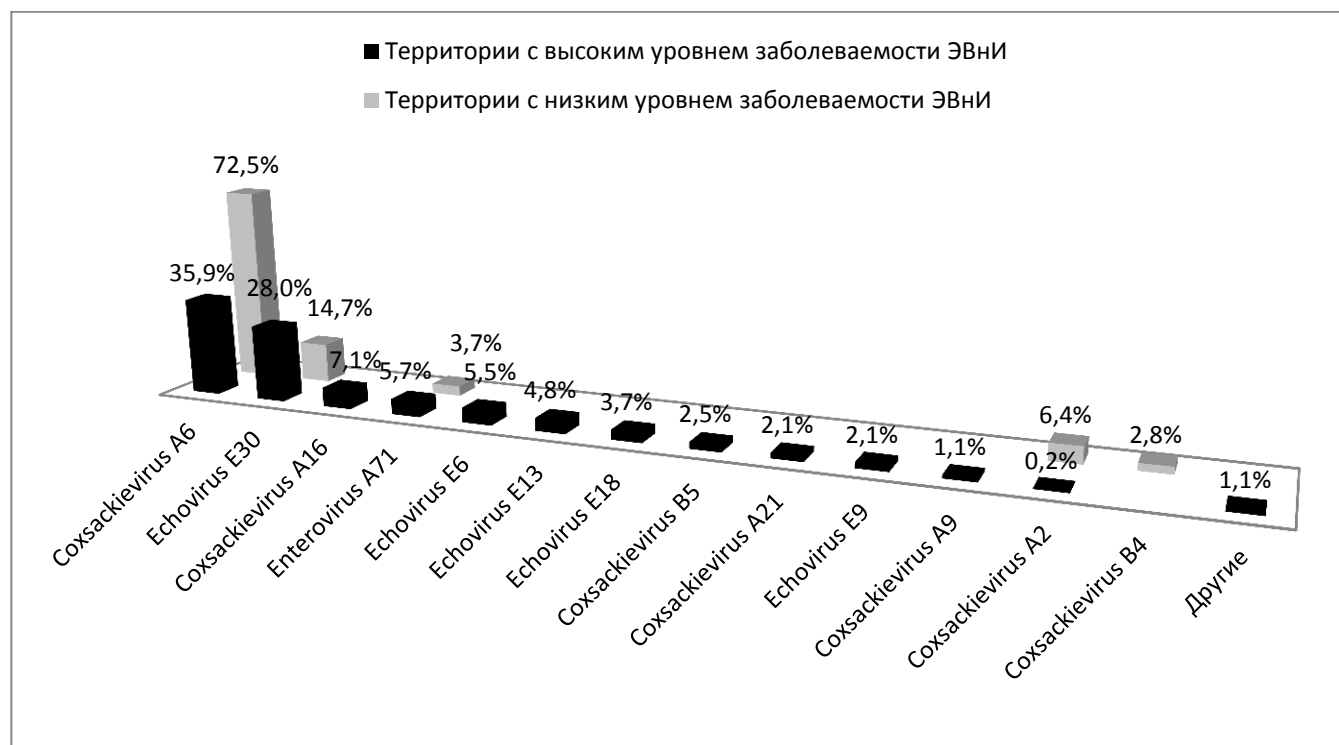


Рисунок 6. Удельный вес отдельных серотипов энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости (с 3-мя и более случаями) на территориях УФО и Западной Сибири в 2017-2019 гг.

На территориях с низкими показателями заболеваемости ЭВНИ, в очагах групповой заболеваемости доминировал серотип Coxsackievirus A6 (72,5 %), а Echovirus E30 (14,7 %) 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) (Рисунок 7).

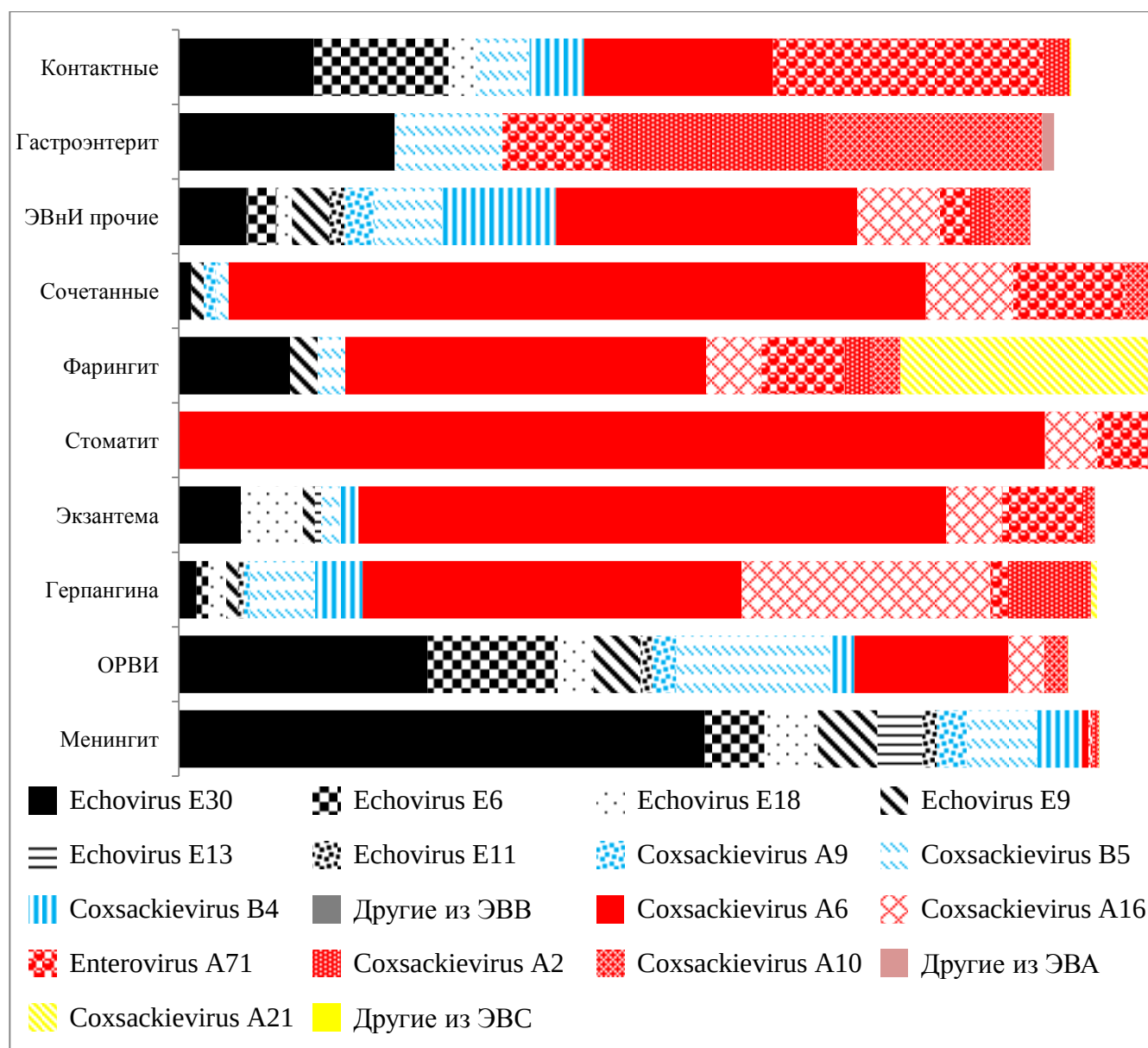


Рисунок 7. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции при различных клинических формах (2017-2019 гг.).

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 %).

Ведущие возбудители из крупных эпидемических очагов лидировали в общей этиологической структуре (87,4 %) как на территориях с высокой интенсивностью (86,3 %), так на территориях с низкими показателями заболеваемости (89,2 %). Спектр циркулирующих энтеровирусов в очагах групповой заболеваемости имел меньшее разнообразие, чем при спорадической заболеваемости.

Специфика клинических форм в каждой возрастной категории определила преобладающие серотипы у детей (в возрастной группе до 3-х лет - Coxsackievirus A6, от 4-х до 6-ти лет - Echovirus E30 и Coxsackievirus A6, от 7-ми до 15-ти лет - Echovirus E30). Доминирование Echovirus E30 и Coxsackievirus A6 у взрослых (с

18-ти лет и старше) было не столь значимым (Рисунок 8).

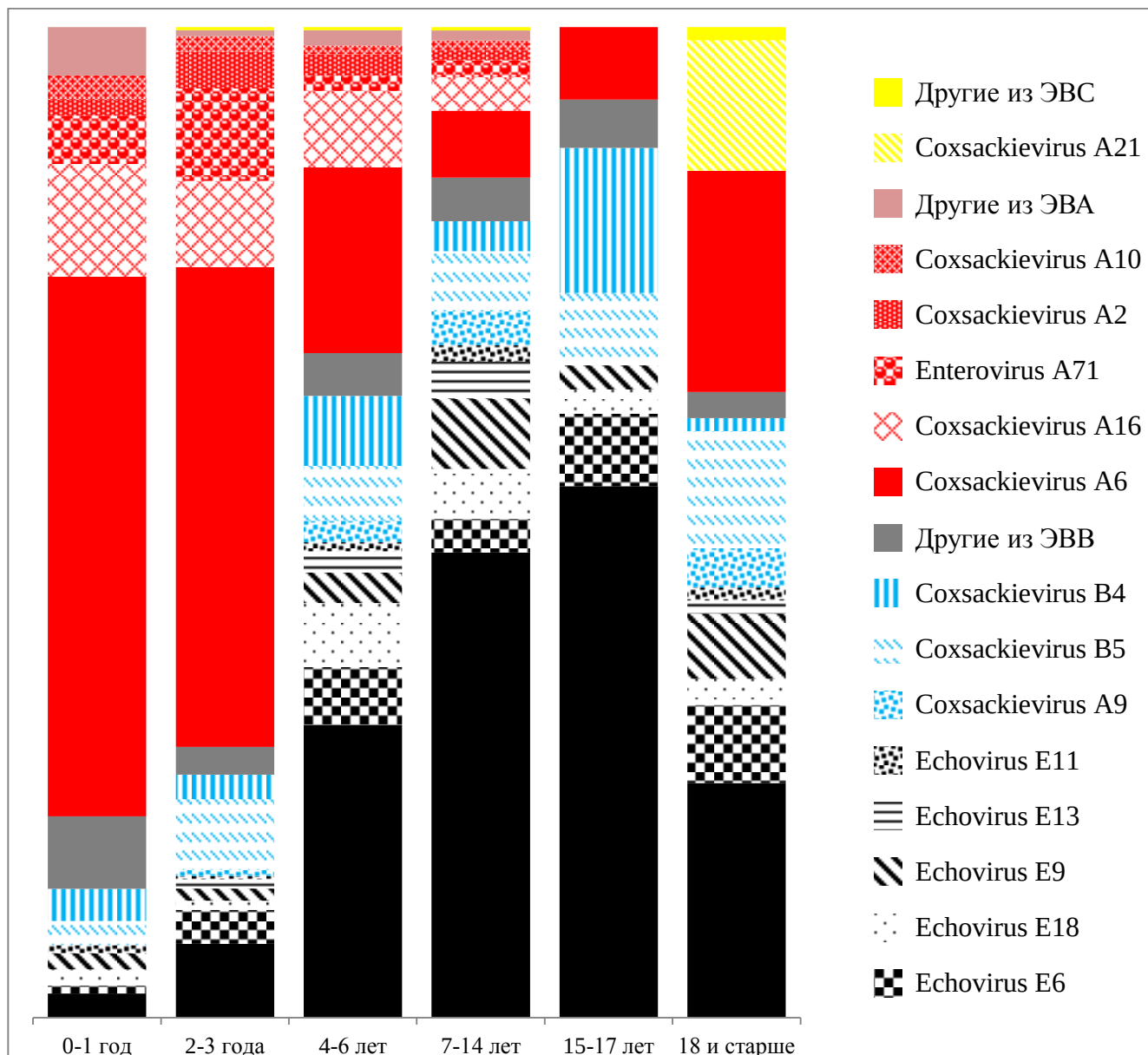


Рисунок 8. Этиологическая структура энтеровирусной (неполио) инфекции в различных возрастных группах (2017-2019 гг.).

Филогенетический анализ двух актуальных геновариантов – Echovirus E30 (81 изолят) и Coxsackievirus B5 (52 изолята) позволил установить, что различные генотипы (субтипы) НПЭВ имеют неодинаковую эпидемическую значимость. В течение небольшого промежутка времени (одного сезона) может произойти существенная смена доминирующих вариантов. Так, смена варианта вируса E30h на вариант E30e (Рисунок 9), циркулировавший на территории РФ до 2011 г., привела в 2017 году к самому большому за весь период наблюдения всплеску заболеваемости в РФ, включая территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири.

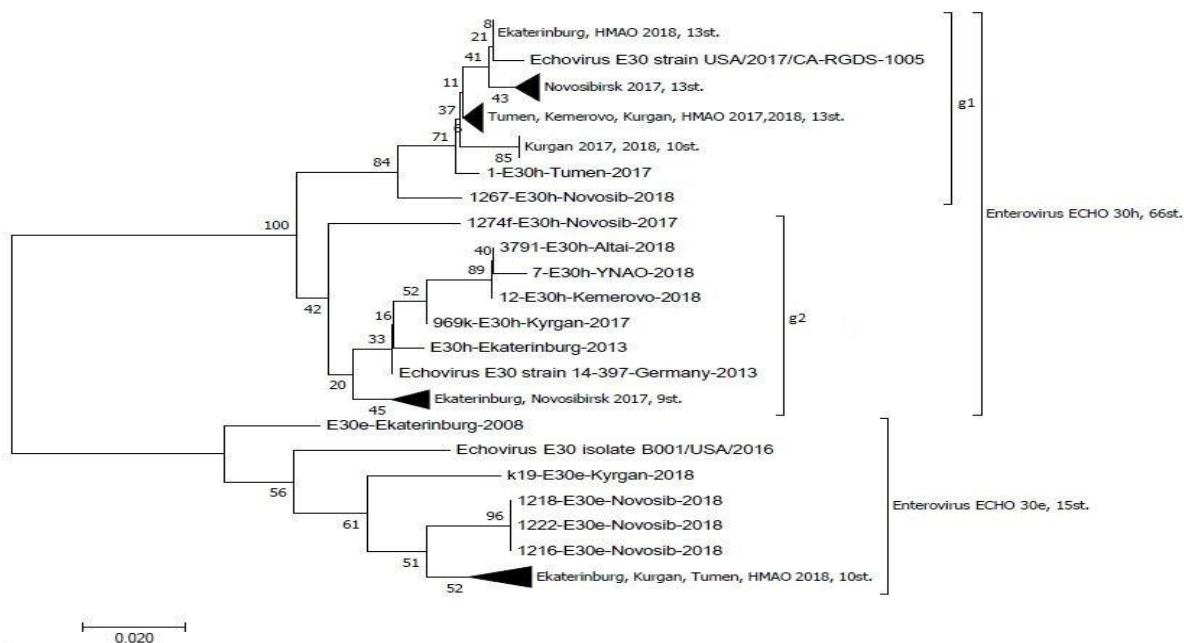


Рисунок 9. Филограмма штаммов вируса E30, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017 г. и 2018 г.

Штаммы нового геноварианта Coxsackievirus B5 (Рисунок 10), 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.

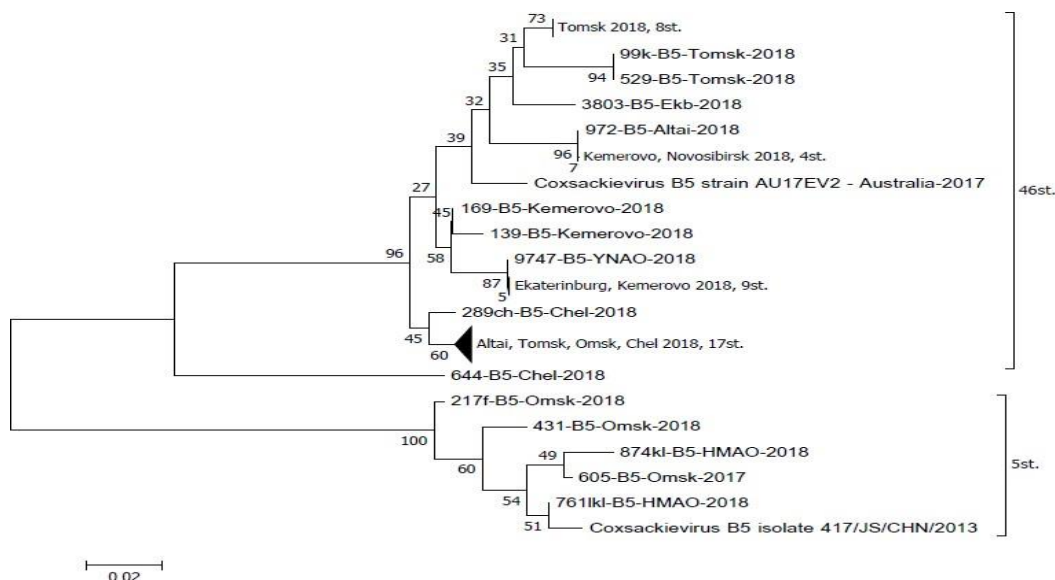


Рисунок 10. Филограмма штаммов вируса CB5, выделенных на территории Уральского Федерального округа и Западной Сибири в 2017 г. и 2018 г.

Дать объективную оценку последствиям этого сложного биологического процесса можно будет лишь спустя определенный промежуток времени 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 с целью раннего выявления предвестников эпидемического неблагополучия на территории с использованием современных методов лабораторной диагностики.

Пятая глава посвящена сравнительной характеристике современных методов прогнозирования этиологии энтеровирусной (неполио) инфекции на примере энтеровирусного менингита и вопросам совершенствования методов вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга.

Известно, что оценку интенсивности циркуляции НПЭВ среди населения на территории РФ в настоящее время осуществляют несколькими методами. В их числе широко используют вирусологическое исследование сточных вод, в ряде случаев оценивают частоту «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) и 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» вирусоносительства, ранее было установлено, что наиболее информативной группой населения являются дети, а сравнительный филогенетический анализ НПЭВ, выделенных из фекалий «здоровых» детей и из ликвора больных лиц с ЭВМ показал высокое генетическое родство (Сергеев А.Г., 2017 г.).

Сравнительная оценка эффективности исследования проб сточных вод и фекалий «здоровых» детей для прогнозирования этиологии наиболее тяжелой клинической формы ЭВНИ – энтеровирусного менингита, была проведена на примере крупного мегаполиса, г. Екатеринбурга. Установлено, что группой риска по заболеваемости ЭВМ явилась возрастная когорта детей от 3-х до 6-ти лет (186,49 ‰₀₀₀₀). Заболеваемость в этой группе в 2,1 раза превысила заболеваемость среди детского населения г. Екатеринбурга (89,08 ‰₀₀₀₀) и в 9,9 раза - среди всего населения города (18,82 ‰₀₀₀₀). Уровень заболеваемости в остальных возрастных группах детского населения был существенно ниже. Это позволило определить «индикаторную» группу для прогнозирования этиологии ЭВМ – «здоровые» носители НПЭВ от 3-х до 6-ти лет.

Анализ результатов исследований 4524 проб фекалий от детей «индикаторной» группы, проведенных в 2011 – 2017 гг. в помесечном разрезе, выявил, что подъему заболеваемости ЭВМ всегда предшествовало увеличение частоты обнаружения НПЭВ в фекалиях «индикаторной» группы (Рисунок 11).

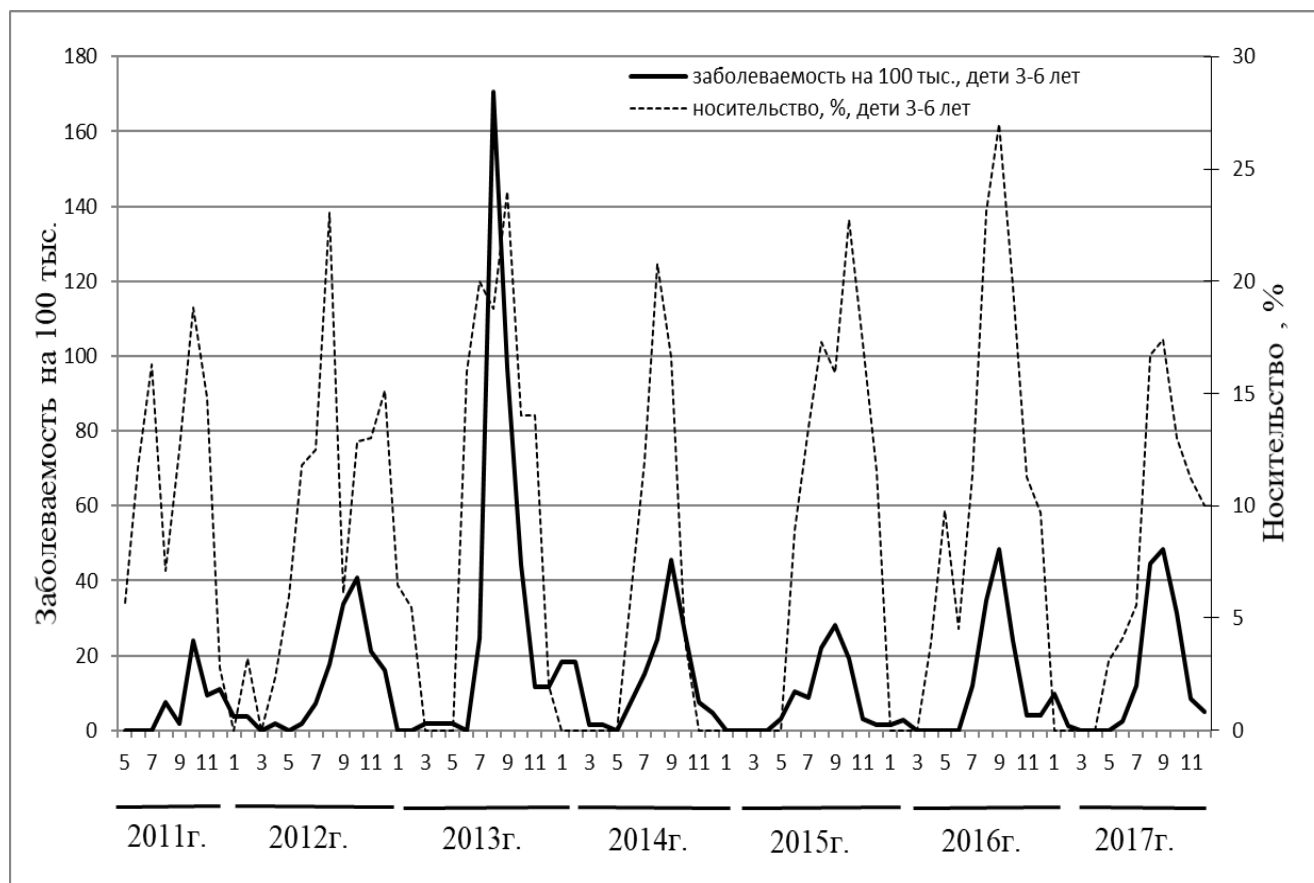


Рисунок 11. Заболеваемость энтеровирусным менингитом (сл. / 100 тыс.) и частота встречаемости (сл. / 100) НПЭВ в фекалиях группы здоровых носителей (дети 3-6 лет) г. Екатеринбурга, 2011-2017 гг.

В группе «здоровых» носителей и среди больных ЭВМ за 7-летний период наблюдения был установлен высокий процент совпадений НПЭВ по представительству ЕСНО и Coxsackievirus B. Все серотипы Coxsackievirus B и ЕСНО (100,0 %), выделенные у пациентов с ЭВМ из ликвора, 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 у «здоровых» носителей и серотипов НПЭВ при ЭВМ в отдельные годы наблюдения не прослеживалась. В связи с чем, был проведен дополнительный анализ частоты встречаемости серотипов НПЭВ в разные временные интервалы (за 4, 5, 6, и 7 лет) и результаты исследований за 5-летний период наблюдения оказались самыми достоверными. Сопоставимость по всем параметрам в группах ЕСНО и Coxsackievirus B превысила 97,9 % (Таблица 5).

Таким образом, включение на постоянной основе в систему молекулярно-генетического мониторинга за НПЭВ исследования фекалий детей 3-6 лет с последующим анализом данных о циркуляции НПЭВ не менее чем за пять лет, позволит прогнозировать этиологическую структуру ЭВМ на определенной территории.

Таблица 5. Частота встречаемости совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных у здоровых носителей (дети 3 – 6 лет) и от больных энтеровирусным менингитом г. Екатеринбурга, 2013 – 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 A	49	6	12,2 [5,7 - 24,2]	19	19	100,0 [83,2 - 100]	$\chi^2(1) = 45,4$ $p < 0,0001^{\textcircled{R}}$
Coxsackievirus B	20	20	100,0 [83,9 - 100]	32	32	100,0 [89,3 - 100]	
ECHO	22	22	100,0 [85,1 - 100]	194	190	97,9 [94,8 - 99,2]	$\chi^2(1) = 0,5$ $p = 0,99^{\textcircled{R}}$
EV	1	-	-	1	-	-	
Всего:	92	48	52,2 [42,1 - 62,1]	246	241	97,7 [95,3 - 99,1]	$\chi^2(1) = 113,3$ $p < 0,0001^{\textcircled{R}}$

Примечание: * – серотипы НПЭВ, выделенные из фекалий «здоровых» носителей, совпадали с серотипами НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ; ** – серотипы НПЭВ из проб ликвора больных ЭВМ совпадали с серотипами НПЭВ, выделенных из фекалий;

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); $\textcircled{R}$ – оценка статистической значимости для слабонасыщенных таблиц (ячейки со значениями < 5 ($f_{ij} \leq 5$)) методом рандомизационной техники Монте-Карло ($n = 9999$).

Второй подход к методам прогнозирования эпидемиологической ситуации по заболеваемости ЭВНИ отводят вирусологическому и молекулярно-генетическому мониторингу сточных вод. Анализ результатов санитарно-вирусологических исследований проб сточных вод и проб ликвора пациентов с ЭВМ в г. Екатеринбурге за аналогичный период времени (2011 - 2017 гг.) выявил низкий уровень обнаружения НПЭВ в сточных водах - 4,3 %. За 7 лет выделено 22 штамма (Таблица 6).

Таблица 6. Результаты совпадений отдельных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных из сточных вод г. Екатеринбурга и от 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	235	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	273	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); $\textcircled{R}$ – оценка статистической значимости для слабонасыщенных таблиц (ячейки со значениями < 5 ($f_{ij} \leq 5$)) методом рандомизационной техники Монте-Карло ($n = 9999$).

В сточных водах преобладали вирусы Coxsackievirus B – 19 из 22 штаммов (86,4 % случаев), в ликворе ЕСНО – 319 из 422 штаммов (75,6 %). Большинство серотипов вирусов 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. Перечисленное выше, свидетельствовало 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) и свидетельствовали о несоответствии частоты и спектра НПЭВ, обнаруженных в сточной воде и биологическом материале от больных ЭВМ.

Одним из существенных недостатков мониторинга сточных вод, на наш взгляд, явилось в ряде случаев, невозможность их типирования, вследствие недостаточной эффективности концентрирования воды и ингибирующего влияния на возбудителя факторов химической и биологической природы. Однако, динамическое наблюдение за НПЭВ в сточных водах, по нашему мнению, может стать важным дополнительным звеном в системе вирусологического и молекулярно-генетического мониторинга за ЭВНИ 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 из внешней среды (сточные воды), как объектов по оценке этиологии ЭВНИ на отдельно взятой территории, показала важность качественной лабораторной диагностики на современном этапе. Для проведения научных исследований в этом направлении нами 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 - CB5-8100 (Coxsackievirus B5) и E - 11/RD (Echovirus 11). Серии экспериментов выявили высокий уровень чувствительности клеточной культуры почек (ккП) к штамму CB5 – 8100. Учитывая, что эта клеточная линия является новой для практической вирусологии, представляет интерес изучение спектра ее чувствительности к различным серовариантам энтеровирусов человека. Паспортизация клеточной культуры почки (ккП), открывает перспективы ее использования для изучения энтеровирусной инфекции с участием распространенного на территории РФ серотипа CB5 и вместе с разработанным в ходе диссертационного исследования нового способа генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома (патент на изобретение RU 2701145), дает новый инструмент к использованию вирусологических и молекулярно-генетических методов для лабораторной диагностики ЭВНИ.

В шестой и седьмой главах научно обоснованы мероприятия по совершенствованию эпидемиологической диагностики и эпидемиологического контроля в очагах энтеровирусной (неполио) инфекции.

На части изучаемых территорий с 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 существенной корректировки подходы, применяемые к определению истинного количества очагов и их пространственных границ. Так, в ХМАО (2016 г.) при высоком уровне заболеваемости, 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. 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. 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 алгоритм работы информационной системы эпидемиологической диагностики распространения ЭВНИ (ИСЭД ЭВНИ). Особенность данной системы заключается в аналитической обработке загруженных данных с элементами машинного обучения, которая в соответствии с заданными параметрами может провести дифференциальную диагностику ЭВНИ с высокой чувствительностью, высокой прогностической ценностью и специфичностью, нарастающую по мере накопления данных. Участниками системы являются 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 - Управление

Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации. Событиями, с которых начинается ввод данных в информационную систему, являются: 1) случай выявления инфекционного заболевания у нового пациента с подозрением на ЭВНИ и 2) 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, неподтверждённых контактных лиц – 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 ЭВНИ 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, указывающего 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.

Таким образом, представленная и обработанная программой информация позволит обосновать управленческие решения в отношении объектов социальной инфраструктуры (провести их адресно и с минимальными экономическими затратами), повысить эффективность противоэпидемических мероприятий, средств и способов неспецифической профилактики, которые играют определяющую роль в предотвращении распространения ЭВНИ на современном этапе.

К перспективным направлениям в этой области научных исследований относят разработку высокоэффективных средств и способов дезинфекции, препаратов из органических и химических соединений и растительных субстанций.

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. В их числе проведена оценка бактерицидной активности рабочих и готовых к применению 3 % растворов водно-глицериновых (14 наименований) и пропилен-гликолевых (10 наименований) экстрактов с их последующим тестированием (тест-штамм *Escherichia coli* (ATCC-1257) и вакцинный штамм полиовируса Sabin (LSc-2ab). В ходе исследований с тест-штаммом *Escherichia coli* (ATCC-1257) в группе водно-глицериновых экстрактов из 14-ти лишь в 2-х 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 нами 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 объекта показали наряду с высокой бактерицидной активностью

одинаково высокую вирулицидную активность – 100 % (Таблица 7).

Таблица 7. Вирулицидная активность экстрактов растительных веществ природного происхождения с высокой антибактериальной активностью - 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	3 % растворы водно-глицериновых экстрактов	Пихта (хвоя)	100	100	100	100	100	100
Э-3-14		Ель (хвоя)	100	100	100	100	100	100

Это позволило рекомендовать две субстанции в качестве кандидатов для разработки противовирусных антисептических препаратов.

Следующий раздел работы посвящен совершенствованию метода аэрозольной дезинфекции систем вентиляции. Из практики известно, что чаще других способов, 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 меняться: 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 (Рисунок 12).



Рисунок 12. Комплект оборудования для аэрозольной дезинфекции (компрессор на 6 атм., гибкий спиральный воздуховод, малярный пистолет, генерирующий аэрозоль 5-25 мкм.

В качестве дезинфицирующего средства использовали препарат «Дезаргент». Для диспергирования применяли 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 позволило получить новый технический результат с минимальными объемами дезинфицирующего средства (25 мл/м^2), 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 является высокая 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.

Еще к одному из перспективных направлений неспецифической профилактики вирусных инфекций относят элиминационную терапию. Она усиливает мукоцилиарную функцию эпителия, минимизирует возможность адгезии возбудителей. Изучено влияние гетероциклического органического соединения роданин и фунгицидного препарата нистатин на патогенный

потенциал двух селекционированных клонов НПЭВ серотипа ЕСНО11 путем оценки формы графиков инфекционной активности в одиночных циклах репродукции. Клон 431-1 с рецептором CD55 (daf+) представлял собой гемагглютинирующий вариант и клон 431-6 с неидентифицированным клеточным рецептором (daf-) - негемагглютинирующий вариант. В качестве экспериментальной модели использована перевиваемая культура клеток RD из коллекции микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора. 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 ЕСНО11 по разности величин инфекционной активности в присутствии роданина и без роданина во временном интервале с 30 по 210 мин. Роданин имел более выраженное ингибирующее действие (Рисунок 13) на депротеинизацию гемагглютинирующего клона daf+ (431-1), чем негемагглютинирующего daf- (431-6).

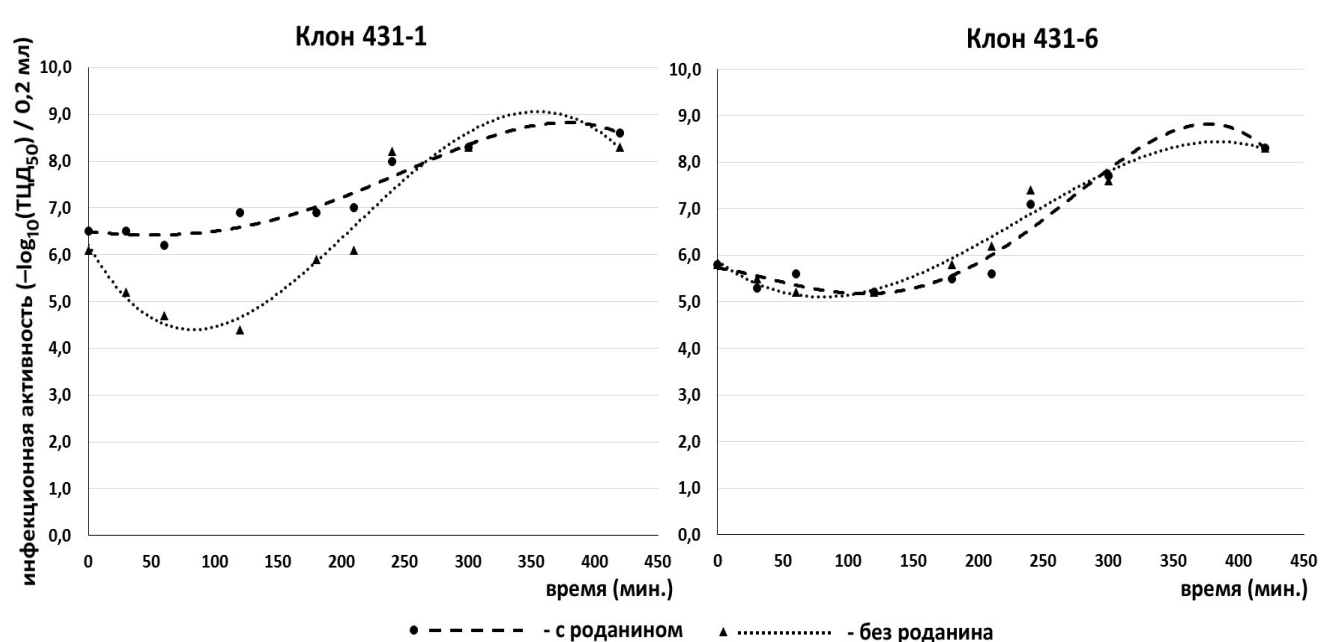


Рисунок 13. Результаты определения инфекционной активности в одиночном цикле репродукции энтеровируса ЕСНО11 (клонов 431-1 и 431-6) с роданином и без роданина

Анализ графиков динамики численности вирусной популяции в эксперименте по определению инфекционной активности в одиночном цикле репродукции клонов 431-1 и 431-6 вируса ЕСНО11 в культуре клеток RD в присутствии нистатина и без нистатина установил, что ингибирующий эффект нистатина на репродукцию daf+ клона 431-1 (Рисунок 14) связан с задержкой интернализации, с пониженной интенсивностью депротеинизации и с пониженной эффективностью синтеза новых вирионов.

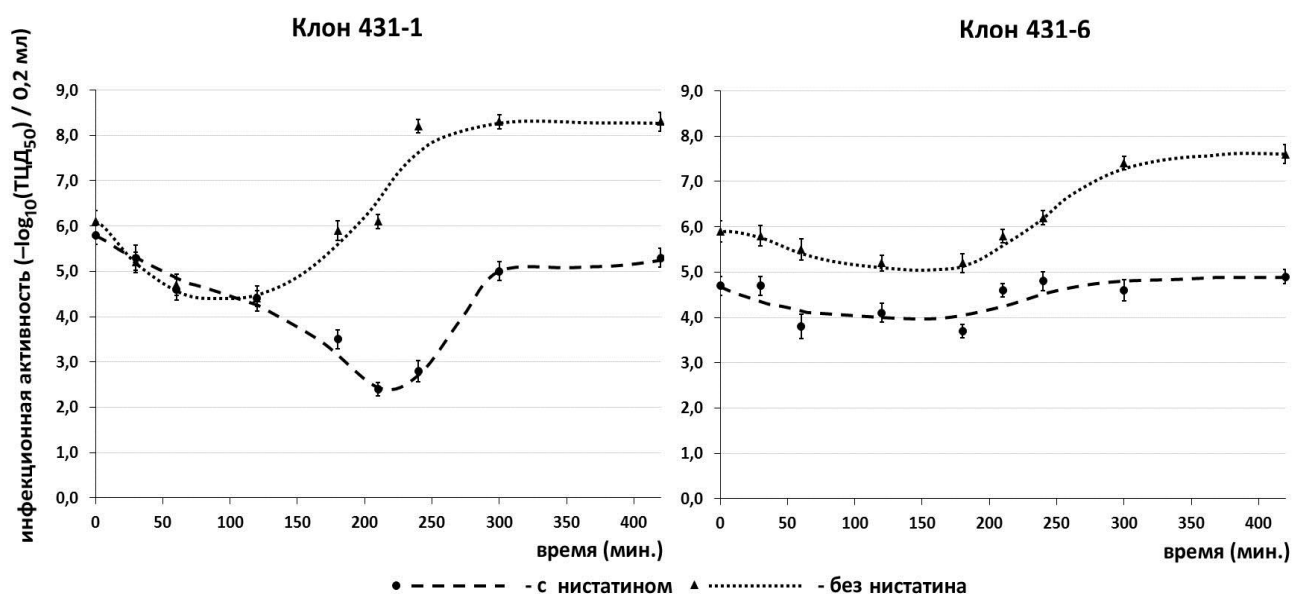


Рисунок 14. Результаты определения инфекционной активности в одиночном цикле репродукции энтеровируса ECHO11 (клонов 431-1 и 431-6) с нистатином и без нистатина

Результаты эксперимента позволили сделать вывод о наличии ингибирующих свойств роданина и нистатина на цикл репродукции наиболее вирулентного, гемагглютинирующего (daf+) клона энтеровируса ECHO11, 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.

В заключении обобщены и проанализированы результаты диссертационного исследования. Итогом представленной 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 молекулярно-генетического 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, а также органических и химических препаратов для элиминации НПЭВ из входных ворот инфекции и разработку нового способа аэрозольной дезинфекции.

ВЫВОДЫ

1. Заболеваемость энтеровирусной (неполио) инфекцией в РФ в 2006-2019 гг. характеризовалась 2-мя разнонаправленными трендами, имела четырехлетнюю периодичность, выраженную летнее-осеннюю сезонность (коэффициент сезонности – 82 %) и высокую очаговость (среднеголетний 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. Среднеголетний уровень заболеваемости за период наблюдения 2010-2019 гг. составил 8,09 ‰, 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 «много 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 % и 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 вирусоносительства 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-х до 6-ти 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 воздуховодов 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 НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ

1. Калмыков, А.А. Применение современных средств дезинфекции воздуха для профилактики инфекционных болезней органов дыхания в организованных коллективах / А.А. Калмыков, Р.М. Аминев, **А.В. Алимов**, В.Г. Носарев, В.С. Поляков // Санитарный врач. – 2014. – № 6. – С. 10-15.
2. **Алимов, А.В.** Опыт медицинской службы по внедрению современных методов профилактики острых респираторных инфекций в войсках / А.В. Алимов, Р.М. Аминев, А.Е. Устинов, Е.С. Матренинская // Военно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 332, № 1. – С. 14-16
3. Калмыков, А.А. Опыт применения современных средств дезинфекции воздуха для профилактики болезней органов дыхания в войсках / А.А. Калмыков, Р.М. Аминев, **А.В. Алимов**, В.Г. Носарев, В.С. Поляков // Военно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 335, № 3. – С. 16-20.
4. **Алимов, А.В.** Этиология острых респираторных вирусных инфекций у военнослужащих, проходящих службу по призыву в Центральном военном округе / А.В. Алимов, А.А. Калмыков, В.С. Поляков, С.В. Артебякин, А.В. Слободенюк, А.Ю. Маркарян, И.В. Вялых // Военно-медицинский журнал. – 2017. – Т. 338, № 11. – С. 45-48.
5. Усольцева, П.С. Механизмы интернализации энтеровирусов вида В / П.С. Усольцева, А.В. Новоселов, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Вестник Уральской Медицинской академической науки. – 2018. – Т.15, №3. – С. 455-469.
6. Усольцева, П.С. Ингибирующее действие роданина на депротенинизацию Эховируса 11 и интерпретация формы графиков одиночного цикла репродукции с использованием динамической модели / П.С. Усольцева, А.В. Новоселов, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Естественные и технические науки. – 2018. – Т.4. – С. 44-51.
7. **Алимов, А.В.** Эпидемиологические особенности групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Уральском федеральном округе и Западной Сибири в 2017 году / А.В. Алимов, А.В. Резайкин, Ю.Ю. Бурцева, П.С. Усольцева, С.В. Шарабрин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 6. – С. 49-55.
8. Акимкин, В.Г. Этиология острых респираторных вирусных инфекций у военнослужащих, дислоцированных на различных территориях / В.Г. Акимкин, В.С. Поляков, С.В. Артебякин, **А.В. Алимов**, А.Ю. Маркарян, И.В. Вялых // Медицинский алфавит. – 2018. – Т.1, №10(347). – С. 38-41.
9. Усольцева, П.С. Роль неонатального FC рецептора в депротенинизации вирусов ЕСНО и Коксаки А9 / П.С. Усольцева, **А.В. Алимов**, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, А.В. Новоселов // Вопросы вирусологии. – 2019. – Т.64, №3. – С. 132-139.

10. **Алимов, А.В.** Практика использования аэрозольной дезинфекции систем вентиляции / А.В. Алимов, Н.Н. Жуйков, Л.Г. Вяткина, Т.А. Рупышева // Дезинфекционное дело. – 2019. – №4 (110). – С. 37-42.
11. Суворин, Д.А. Поиск новых растительных субстанций в качестве кандидатов для разработки кожных антисептиков / Д.А. Суворин, **А.В. Алимов**, Ю.А. Захарова, Е.В. Болгарова // Медицинский алфавит. – 2020. – № 19. – С. 13-16.
12. Чалапа, В.И. Энтеровирусная инфекция в Уральском Федеральном округе и Западной Сибири: результаты эпидемиологического наблюдения с применением молекулярно-генетических методов / В.И. Чалапа, А.В. Резайкин, П.С. Усольцева, **А.В. Алимов** // Медицинский алфавит. – 2020. – № 19. – С. 38-43.
13. **Алимов, А.В.** Определение чувствительности новых клеточных культур животного происхождения к клиническим изолятам энтеровируса человека Echovirus 11 и Coxsackievirus B 5 / А.В. Алимов, О.С. Федотова, Н.А. Шмалева, А.А. Бахарев, А.В. Резайкин, П.С. Усольцева, Б.С. Имангалиев, Т.Л. Бахарева // Медицинский алфавит. – 2020. – № 19. – С. 17-19.
14. Акимкин, В.Г. Современные подходы к прогнозированию эпидемиологической ситуации по заболеваемости энтеровирусным менингитом / В.Г. Акимкин, И.В. Фельдблюм, **А.В. Алимов**, А.Г. Сергеев // Медицинский алфавит. – 2020. – № 19. – С. 7-12.

Патенты РФ на изобретение

15. Резайкин, А.В. Способ генотипирования энтеровирусов методом секвенирования 1А-1В участка генома: пат. 2701145 Рос. Федерация : МПК А61К 39/125 / А.В. Резайкин, С.В. Шарабрин, П.С. Усольцева, **А.В. Алимов**; заявитель и патентообладатель ФБУН Екатеринбургский науч.-исслед. ин-т вирусных инфекций Роспотребнадзора ; заявл. 10.07.2019 ; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 27. 6 с.
16. **Алимов, А.В.** Аэрозольный способ дезинфекции систем вентиляции : пат. 2731265 Рос. Федерация : МПК А61L 9/12, А61L 2/22 / А.В. Алимов, Н.Н. Жуйков, Т.А. Рупышева ; заявитель и патентообладатель ФБУН Екатеринбургский науч.-исслед. ин-т вирусных инфекций Роспотребнадзора ; заявл. 17.12.2019 ; опубл. 01.09.2020, Бюл. № 25. 8 с.

Прочие публикации

17. Резайкин, А.В. Генетические полиморфизмы, контролирующие рецепторную специфичность вирусов ЕСНО / А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием (30 марта – 1 апреля 2015, Москва). – С. 285-286.
18. 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. Резайкин, **А.В. Алимов** // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015. – № 28. – С. 20-26.
19. 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.В. Алимов**, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев // Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной (25 мая 2016, Нижний Новгород). Н.Новгород: Растр-НН. – 2016. – С. 106-111.

20. Устюжанин, А.В. Результаты мониторинга циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов на территории мегаполиса / А.В. Устюжанин, **А.В. Алимов**, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев // Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе: Сборник материалов научно-практической конференции (Новосибирск, 26-27 сентября 2016). Новосибирск: АРЕАЛ. – 2016. – С. 131-133.
21. **Алимов А.В.** Современные подходы к аэрозольной дезинфекции систем вентиляции в лечебно-профилактических организациях / А.В. Алимов, Н.Н. Жуйков // Дезинфекционное дело. – 2016. – №4 (98). – С. 64.
22. Усольцева, П.С. Рецепторная специфичность и скорость интернализации неполиомиелитных энтеровирусов / П.С. Усольцева, А.Г. Сергеев, А.В. Резайкин, Ф.А. Фадеев, **А.В. Алимов** // Инфекционные болезни. – 2016. – Т. 14, № 1S. – С. 289.
23. Резайкин, А.В. Особенности эпидемиологической ситуации и этиологическая структура энтеровирусной инфекции в Уральском федеральном округе и Западной Сибири в 2017 г. / А.В. Резайкин, П.С. Усольцева, С.В. Шарабрин, Ю.Ю. Бурцева, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (01-04 ноября 2017, Сочи). – Краснодар: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2017. – С. 200-201.
24. Устюжанин, А.В. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО30 - возбудителя серозного менингита на территории Свердловской области в период с 2007 по 2016 гг. / А.В. Устюжанин, А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9. – № S2. – С. 73-74.
25. Усольцева, П.С. Молекулярная эпидемиология вируса Коксаки А9 - возбудителя серозного менингита на территории г. Екатеринбурга и Свердловской области в период с 2008 по 2016 гг. / Усольцева П.С., А.В. Резайкин, А.Г. Сергеев, А.В. Устюжанин, **А.В. Алимов** // Инфекционные болезни. – Т. 15. – № S1. – С. 287-288.
26. Резайкин, А.В. Оценка эпидемической ситуации по энтеровирусной инфекции на территориях Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2017 г. / А.В. Резайкин, Ю.Ю. Бурцева, **А.В. Алимов** // Инфекция и иммунитет. – 2017. – № S. – С. 624.
27. Резайкин, А.В. Оценка эпидемиологической ситуации по энтеровирусной инфекции на территориях Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2017 году / А.В. Резайкин, Ю.Ю. Бурцева, П.С. Усольцева, С.В. Шарабрин, **А.В. Алимов** // Информационный бюллетень «Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции» (ФБУН «Нижегородский НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Н.Новгород). – 2018. – №5. – С. 26-28.
28. Резайкин, А.В. Оценка эпидемиологической ситуации по энтеровирусной инфекции на территориях Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2018 году / А.В. Резайкин, В.И. Чалапа, С.В. Шарабрин, П.С. Усольцева, **А.В. Алимов** // Информационный бюллетень «Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции» (ФБУН «Нижегородский НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Н.Новгород). – 2019. – №6. – С. 25-29.
29. Усольцева, П.С. Роль бета-2-микроглобулина в интернализации энтеровирусов вида В / П.С. Усольцева, А.В. Резайкин, А.В. Новоселов, А.Г. Сергеев, **А.В. Алимов** // Материалы X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием (26-28 февраля 2018, Москва). – С. 231.

30. Резайкин, А.В. Этиологическая структура энтеровирусной инфекции в Уральском федеральном округе и Западной Сибири в 2017 году / А.В. Резайкин, Ю.Ю. Бурцева, П.С. Усольцева, **А.В. Алимов** // Материалы X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием (26-28 февраля 2018, Москва). – С. 183.
31. Усольцева, П.С. Влияние нистатина на процесс интернализации близкородственных клонов вируса ЕСНО11 имеющих различную рецепторную специфичность / П.С. Усольцева, А.В. Резайкин, **А.В. Алимов** // Вирусные инфекции и общество: проблемные вопросы диагностики, лечения и профилактики: сборник тезисов межрегиональной научно-практической конференции с международным участием (17-18 октября 2018 г.). – Екатеринбург: ИД Юника, 2018. – С. 102-104.
32. Резайкин, А.В. Молекулярная эпидемиология неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших на территории Уральского федерального округа и Западной Сибири в 2018 г. / А.В. Резайкин, П.С. Усольцева, С.В. Шарабрин, Ю.Ю. Бурцева, **А.В. Алимов** // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов XI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием (1-3 апреля 2019, Москва), 2019. – С. 169.
33. **Алимов, А.В.** Дезинфекция методом аэрозолирования. Вчера, сегодня, завтра / А.В. Алимов, Д.А. Суворин, Н.Н. Жуйков // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2019): VII Конгресс с международным участием (г. Москва, 28-29 ноября 2019 г.) под ред. академика РАН Акимкина В.Г. – М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2019. – С. 10.
34. Чалапа, В.И. Эпидемиология неполиомиелитной энтеровирусной инфекции у новорожденных / В.И. Чалапа, А.В. Резайкин, **А.В. Алимов** // Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: тез. науч.-практ. конф. с межд. уч. / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой и академика АН РБ, д-ра мед. наук, проф. А.Б. Бакирова. – Уфа, 2019. – С. 339-342.
35. **Алимов, А.В.** Современное состояние проблемы энтеровирусных (неполио) инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / А.В. Алимов, Е.П. Игонина, И.В. Фельдблюм, В.И. Чалапа, Ю.А. Захарова // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10, № 3. – С. 486-496.

Список сокращений

ЕГИСУ НИОКР	– Единая государственная информационная система учета научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ гражданского назначения
ИСЭД ЭВнИ	– Информационная система эпидемиологической диагностики распространения энтеровирусной (неполио) инфекции
МУ	– Методические указания
МУК	– Методические указания
НИР	– Научно-исследовательская работа
НПЭВ	– Неполиомиелитные энтеровирусы
ОТ-ПЦР	– Полимеразно-цепная реакция с обратной транскрипцией
ПЦР	– Полимеразно-цепная реакция
РФ	– Российская Федерация
СМУ	– Средний многолетний уровень
ТЦД50	– Тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50 % клеток монослоя
ФБУН	– Федеральное бюджетное учреждение науки
ФГБНУ	– Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
ЭВМ	– Энтеровирусный менингит
ЭВнИ	– Энтеровирусная (неполио) инфекция
RD	– Клеточные культуры рабдомиосаркомы

АЛИМОВ АЛЕКСАНДР ВИКТОРОВИЧ

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

14.02.02 – эпидемиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Пермь – 2020