

КОВАЛЕВ ЕВГЕНИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕПОЛИОМИЕЛИТНОЙ
ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

3.2.2. Эпидемиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону - 2024

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научный руководитель: **Твердохлебова Татьяна Ивановна**
доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты: **Фельдблюм Ирина Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующий кафедрой эпидемиологии и гигиены Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Жукова Лариса Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 64.1.006.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 410005, Саратов, ул. Университетская, д.46.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте <http://www.microbe.ru/disser/dissert> Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Бугоркова Светлана Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень разработанности

Вирусные инфекции представляют значительную опасность для населения всей планеты, включая Россию, среди которых особое место занимает неполиомиелитная энтеровирусная инфекция (НПЭВИ). Связано это с повсеместным распространением НПЭВИ, обилием генотипов возбудителя, его пантропизмом, многообразием клинических вариантов с поражением различных органов и систем, широким носительством, высокой восприимчивостью к инфекции, главным образом, детского населения [Троценко О. Е. и др., 2015; Устюжанин А.В., 2017; Лукашев А. Н. и др., 2018; Голицына Л. Н. и др., 2019; Алимов А. В., 2020; Новиков Д. В., Мелентьев Д. А., 2022].

В настоящее время неполиомиелитные энтеровирусы (НПЭВ) человека представлены более, чем 120 серологическими вариантами [Zell R., 2018]. Постоянно меняющиеся масштабы их распространения и спектр эпидемически значимых серотипов и генетических вариантов, доминирующих в определенное время в конкретном географическом районе, обуславливают актуальность постоянного слежения за циркуляцией НПЭВ как среди населения, так и в объектах окружающей среды [Фомина С.Г. и др., 2012; Алимов А.В., 2020; Канаева О.И., 2021; Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., 2022].

География НПЭВИ широка и охватывает практически все страны мира. Эндемичными территориями с высокой заболеваемостью НПЭВИ, по-прежнему, остаются страны Азиатско-Тихоокеанского региона [Бутова Л.В. и др., 2018; Голицына Л.Н. и др., 2019]. Описаны крупные вспышки, вызванные вирусами ЕСНО 6, 13, 30, а также энтеровирусом А 71 типа, которые имели место в Китае, на Тайване и в Тунисе. Так, в 2008 году была зарегистрирована вспышка НПЭВИ в Китае с вовлечением в эпидемический процесс 19-ти административных образований страны и числом заболевших более 30 тыс. человек с 39 летальными исходами.

В последние годы существенно расширились торговоэкономические связи России со странами Восточной Азии с интенсивным ростом товарооборота [Майборода И.Е., Пулатова Ш.Н., 2020; Изотов Д.А., 2020], что способствовало увеличению международного пассажиропотока и одновременно - более высокому риску заноса в нашу страну новых, ранее не циркулировавших в ней, штаммов НПЭВ [Голицына Л.Н. и др., 2015; Сапега Е.Ю. и др., 2016; Канаева О.И., 2021].

В Российской Федерации официальная статистическая отчетность по НПЭВИ введена с 2006 года. Вспышки и случаи НПЭВИ регистрировались на территориях СЗФО, ДФО, ЮФО, ПФО и СКФО [Романенкова Н.И. и др., 2014, 2017; Жукова Л.И. и др., 2014; Лукашев А.Н. и др., 2014; Сапега Е.Ю. и др., 2018]. Наиболее высокие показатели заболеваемости данной инфекцией характерны для субъектов Российской Федерации на Дальнем Востоке [Троценко О.Е. и др., 2014; Сапега Е.Ю. и др., 2019].

По данным Д.В. Новикова и Д.А. Мелентьева (2022), на территории России обнаружена циркуляция не менее 53 типов НПЭВ (всех 4 видов), среди которых эпидемическое значение имеют возбудители экзантемных форм заболевания (Коксаки А6, А10, А16; ЭВ А71), асептического менингита (ЕСНО 30, 6; Коксаки В5) и миокардита (Коксаки В3). Суммарная доля данных вирусов превышает 50% от всех НПЭВ, идентифицированных на территории России [Сапега Е. Ю. и др., 2018; Голицына Л.Н., 2019]. При этом частота обнаружения НПЭВ в субъектах Российской Федерации характеризуется неравномерностью распределения и сезонными подъемами. Смена циркулирующих штаммов оказывает существенное влияние на уровень заболеваемости НПЭВИ [Алимов А. В., 2020]. Появлением нового высокопатогенного штамма ЭВ А71 типа были обусловлены вспышки НПЭВИ в 2013 г. на ряде территорий Российской Федерации, в том числе и крупномасштабная вспышка заболевания в Ростовской области в июне 2013 г. среди детского населения с количеством заболевших более 600 человек, где имели место случаи тяжелого клинического течения с одним летальным исходом [Лукашев А.Н. и др., 2014; Симованьян Э.Н. и др., 2014; Канаева О.И., 2021].

В литературе имеются многочисленные сообщения о разработке вакцин для специфической профилактики НПЭВИ, обусловленной ЭВ А 71 типа, о разработке типоспецифических моновалентных и комбинированных вакцин на основе инактивированных НПЭВ Коксаки А6, А10, А16, а также на основе ЭВ А 71 и Коксаки А16 [Cai Y. et al., 2014; Zhu F. et al., 2014; Lei D. et al., 2020; Новиков Д.В., Мелентьев Д.А., 2022]. Однако зарегистрированные в Российской Федерации препараты для специфической профилактики НПЭВИ отсутствуют, и поэтому важное значение имеет разработка средств неспецифической профилактики этого заболевания.

Выраженные тенденции изменения проявлений эпидемического процесса отдельных нозологических форм инфекционной патологии ставят новые задачи перед санитарно-эпидемиологической службой, от успехов решения которых зависит сохранение здоровья нации [Покровский В.И., Черкасский Б.Л., 2003; Попова А.Ю., 2014, 2023]. Одной из таких задач является совершенствование системы эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями в различных регионах страны. Многочисленность генетических вариантов возбудителя НПЭВИ, разнообразие путей и факторов их передачи, тяжесть течения и наличие осложнений, приводящих в ряде случаев к летальному исходу, указывают на необходимость постоянного совершенствования системы эпиднадзора за данной инфекцией с учетом региональных природно-климатических, а также социальных условий жизни и деятельности населения. Значение выполнения этой задачи особенно важно в связи с активизацией на территории России в последние годы миграционных процессов, в том числе в период вооруженных конфликтов.

Учитывая вышеизложенное, весьма актуальным представляется изучение эпидемиологических аспектов неполиомиелитной энтеровирусной инфекции в Ростовской области с учетом региональных особенностей, детальным анализом крупномасштабной вспышки заболевания в 2013 году, молекулярно-генетической характеристики штаммов НПЭВ на основании геномного мониторинга в различные периоды наблюдения (2006-2022 гг.) для совершенствования эпидемиологического надзора за данной инфекцией в регионе, включающего в том числе и разработку средств неспецифической ее профилактики. Подобного рода исследований на территории Ростовской области ранее не проводилось.

Цель работы - изучение эпидемиологических аспектов неполиомиелитной энтеровирусной инфекции в Ростовской области и разработка научно-обоснованных подходов к совершенствованию эпидемиологического надзора за данным заболеванием.

Задачи:

1. Изучить и дать оценку эпидемиологической ситуации по НПЭВИ в Ростовской области за 17-летний период (с 2006 по 2022 гг.) с анализом спектра генетических вариантов НПЭВ и определением периодичности их циркуляции.
2. Провести ретроспективный анализ крупномасштабной вспышки НПЭВИ в Ростовской области в 2013 году с учетом изучения эпидемиологических особенностей заболевания, биологических характеристик возбудителя.
3. Выяснить характер эпидемиологической связи между групповыми заболеваниями в очагах НПЭВИ в Ростовской области с применением филогенетического анализа.
4. Изучить влияние миграционных процессов и природно-климатических факторов на показатели заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области.
5. Научно обосновать влияние деконтаминационных растворов («ДКР-1» и «ДКР-2») на деградацию генетического материала возбудителя НПЭВИ и оценить их эффективность для неспецифической профилактики данного заболевания.
6. Разработать, внедрить и оценить эффективность комплекса противоэпидемических и профилактических мероприятий для снижения заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области.

Научная новизна работы

Впервые определены особенности эпидемиологии неполиомиелитной энтеровирусной инфекции на территории Ростовской области за 17-летний период (2006-2022 гг.): периодические подъемы заболеваемости (2013, 2017, 2019 гг.); быстрота развития и активное

вовлечение в эпидемический процесс детей в возрасте от 3 до 6 лет; смещение начала сезонного подъема заболеваемости на май-июнь; высокая доля энтеровирусного менингита в структуре клинических форм НПЭВИ (до 36,9%); широкий спектр и смена пейзажа генотипов возбудителя заболевания в различные периоды исследования.

Определена важная роль активной миграции населения и расширения торгово-экономических связей со странами Азиатско-Тихоокеанского региона (АТР) в возникновении эпидемической вспышки НПЭВИ в Ростовской области в 2013 году. Расширение внешнеторговых экономических связей России со странами АТР привело к увеличению товарооборота с Китаем в период с 2003 по 2013 гг. более, чем в 6 раз. Туристический поток из Китая в Россию также возрос за период с 2011 по 2015 гг. в 5,6 раза (с 233 тыс. до 1 млн 300 тыс. человек).

Впервые изучен спектр генетических вариантов НПЭВ и определена периодичность их циркуляции на территории Ростовской области в течение длительного периода (2006-2022 гг.). Доминирующими геновариантами в период с 2006 по 2012 гг. были ЕСНО 30, ЕСНО 6, ЕСНО 7. Установлено, что рост заболеваемости НПЭВИ в 2013 г. обусловлен появлением нового, ранее не регистрировавшегося на территории Ростовской области, штамма энтеровируса А 71 типа «китайского» происхождения с высоким риском дальнейшего распространения. В период с 2014 по 2022 гг. преобладали генетические варианты Коксаки А6, А16, Коксаки В5 и ЕСНО 30, 11.

Разработаны деконтаминационные растворы («ДКР-1» и «ДКР-2») и дано научное обоснование их применения с целью неспецифической профилактики НПЭВИ. Подтверждена высокая эффективность деконтаминационных растворов по сравнению с коммерческими дезинфицирующими средствами. Инкубация ректальных мазков больных НПЭВИ с деконтаминационными растворами в течение 30 мин. приводит к деградации генома вируса *Human enterovirus* в 100% случаев. Получен патент на изобретение № 2810593 «Способ удаления РНК энтеровируса в биологическом материале с помощью деконтаминационных растворов» (27.12.2023 г.).

Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования

Использование современных молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование, филогенетический анализ) позволило оптимизировать эпидемиологический надзор за НПЭВИ и способствовало принятию своевременных управленческих решений по характеру и объему противоэпидемических (профилактических) мероприятий для быстрой локализации очагов инфекции в Ростовской области.

В результате проведенных исследований доказано, что эпидемиологическая обстановка по НПЭВИ обусловлена генетическими характеристиками возбудителя. При проведении эпидемиологического расследования случаев заражения НПЭВИ и установления эпидемиологической связи между ними показана необходимость обязательного применения филогенетического анализа.

Результаты настоящего исследования были учтены при разработке СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» в разделе «Критерии введения дополнительных профилактических мероприятий» (п.2611 «Появление в структуре циркулирующих НПЭВ новых серовариантов с высоким эпидемическим потенциалом, ранее не встречавшихся на данной территории»).

Материалы диссертационной работы использованы при составлении и реализации Плана оперативных мероприятий, утвержденного Главным государственным санитарным врачом по Ростовской области; Постановления Главного государственного санитарного врача по Ростовской области «О дополнительных мерах по профилактике энтеровирусной инфекции»; Планов «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции в Ростовской области» на 2012-2014 гг., 2015-2020 гг. и далее до 2027 г. и других документов.

По результатам оценки влияния деконтаминационных растворов («ДКР-1» и «ДКР-2») на деградацию РНК энтеровируса рекомендовано использование в лабораториях медицинских организаций Министерства здравоохранения и учреждений Роспотребнадзора Ростовской

области способа удаления РНК энтеровируса в биологическом материале с целью неспецифической профилактики НПЭВИ.

Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России для подготовки студентов и ординаторов медико-профилактического факультета (г. Ростов-на-Дону, акт внедрения от 15.03.2023 г.) и кафедры эпидемиологии, гигиены и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Северо-Кавказская государственная академия» Минобрнауки России (г. Черкесск, акт внедрения от 10.03.2023 г.).

Методология и методы исследования

Для достижения цели и решения поставленных задач нами была спланирована методология настоящего исследования. Решение поставленных задач осуществлялось с использованием эпидемиологического, микробиологического, масс-спектрометрического, молекулярно-биологического (ПЦР, секвенирование, филогенетический анализ) и статистического методов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эпидемический подъем заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области в 2013 году связан с заносом нового, не регистрировавшегося ранее на данной территории, высокопатогенного энтеровируса человека вида А71 типа субгенотипа С4 «китайского» происхождения, что обусловлено высокой активностью миграционных процессов населения со странами Азиатско-Тихоокеанского региона и климатическими особенностями изучаемой территории.

2. Сохранению риска возникновения очагов с множественными случаями заболевания НПЭВИ на территории Ростовской области в период 2014-2022 гг. способствовала смена пейзажа циркулирующих НПЭВ с наиболее высокой частотой обнаружения таких генетических вариантов как Коксаки А6, Коксаки В5, Коксаки А16, ЕСНО 30, Коксаки А4, ЭВ А71 и ЕСНО 11.

3. Ведущее значение в системе мероприятий, направленных на снижение заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области, имеет совершенствование комплекса мер неспецифической профилактики этого заболевания, в том числе разработка эффективных средств для деконтаминации РНК возбудителя и его деградации.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения диссертации и практические рекомендации базируются на изучении достаточного объема клинического материала и проб объектов внешней среды (ОВС), отобранных в Ростовской области (20 580 образцов). Обоснованность и достоверность научных результатов и выводов диссертационной работы обеспечиваются применением современных методов исследования (эпидемиологический, молекулярно-биологический, микробиологический, масс-спектрометрический, статистический). Все исследования проводились на современном сертифицированном оборудовании, прошедшем метрологическую поверку.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на научных форумах международного, Всероссийского и регионального уровней: VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика - 2014» (Москва, 2014г.); Всероссийской научно-практической конференции «Итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней», посвященной 50-летию со дня организации ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора (Тюмень, 2015г.); межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России» (Ростов-на-Дону, 2016г.); XI съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения» (Москва, 2017г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения», посвященной 100-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Нижний Новгород, 2019г.); XII съезде Всероссийского научно-

практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 2022г.); межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермольевские чтения» (Ростов-на-Дону, 2022г., 2023 г.).

Результаты диссертационной работы представлены на итоговых коллегиях Управления Роспотребнадзора по Ростовской области (Ростов-на-Дону, 2014-2022гг.), Ученом совете ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора (Ростов-на-Дону, 2013-2022гг.).

Публикации

По материалам диссертации подготовлены 22 печатные работы, из них 8 статей, включая 4 публикации в периодических изданиях, рекомендованных ВАК из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальности 3.2.2. Эпидемиология (медицинские науки) и 1 статью в зарубежном издании, 1 патент на изобретение РФ № 2810593, 12 публикаций в сборниках и материалах конференций, 1 коллективная монография «Энтеровирусная инфекция в южных субъектах Российской Федерации (эпидемиология, диагностика, клиника, профилактика)», 2016 г.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 247 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы и 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов, библиографического указателя и 8-ми приложений. Список цитируемой литературы включает 286 источников, из них 188 - отечественных и 98 - зарубежных. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 39 рисунками.

Место выполнения работы и личный вклад автора

Работа выполнялась в период 2013-2022 гг. на базе ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора в рамках 3-х отраслевых программ Роспотребнадзора: «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (2011-2015 гг., ИКРБС № АААА-Б17-217031650059-9), «Проблемно-ориентированные прикладные научные исследования в области надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» (2016-2020 гг., Рег. № АААА-А16-116053150086-4) и «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» (2021-2025 гг., Рег. № 121032300204-0).

Личное участие автора осуществлялось на всех этапах выполнения диссертационной работы и включало определение цели, задач, объектов и методов исследования, разработку дизайна, анализ данных отечественной и зарубежной литературы, практическую реализацию исследования (организация и контроль забора биологического материала и проб объектов внешней среды, анализ заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области в период 2006-2022 гг., статистическая обработка полученных данных), анализ и обобщение полученных результатов. Основные положения диссертации, научные выводы и практические рекомендации сформулированы автором лично.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Сбор материала и наблюдения проводились на территории Ростовской области в период 2006-2022 гг. При этом анализ эпидемиологической ситуации по НПЭВИ и реализация поставленных задач осуществлялись в разные периоды: 2006-2012гг. - до эпидемического подъема заболеваемости данной инфекцией в 2013 году; отдельно 2013 год и 2014-2022гг. Объектами исследования являлись больные НПЭВИ, контактные, больные ОКИ и условно здоровые лица; пробы объектов окружающей среды; штаммы энтеровирусов для определения их генотипа с последующим филогенетическим анализом. С целью проведения

экспериментального исследования по изучению влияния разработанных нами деконтаминационных растворов (ДКР) на деградацию генетического материала возбудителя НПЭВИ исследованы пробы от больных данным заболеванием (таблица 1).

Таблица 1 - Объекты изучения и объем проведенных исследований

№	Объекты изучения	Число наблюдений и исследований	
1.	Отчетные данные Управления Роспотребнадзора по Ростовской области о выявленных случаях НПЭВИ на территории Ростовской области за период 2006-2022 гг. (форма №1 "Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях" (ежемесячная)) и форма №2 государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2006-2022 гг. (годовая)	221	
2.	Карта эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания	74	
3.	Акт эпидемиологического расследования очага инфекционной (паразитарной) болезни с установлением причинно-следственной связи	12	
4.	Донесение о групповой заболеваемости людей	9	
5.	Медицинская карта амбулаторного/стационарного больного НПЭВИ	139	
6.	Опросный лист для стандартизованного сбора эпиданамнеза	588	
7.	Проб биологического материала для ПЦР	больных с подозрением на НПЭВИ (фекалии)	14 661
		контактных (фекалии)	1 879
		больных ОКИ	100
		условно здоровых лиц	500
8.	Пробы объектов внешней среды для ПЦР	сточные воды канализации	2 886
		вода поверхностных водоемов	259
		вода питьевая	21
		продукты питания	64
9	Пробы биологического материала для микробиологических исследований	от больных НПЭВИ и взрослых контактных	35
10.	Штаммы вирусов для определения их генотипа	142	
11.	Пробы биологического материала от больных НПЭВИ для экспериментального исследования по изучению влияния ДКР на деградацию РНК НПЭВ	33	

В работе использованы следующие методы исследования:

- эпидемиологический (описательно-оценочный, аналитический);
- микробиологический (традиционный, с применением бактериологического анализатора Vitek-2);
- масс-спектрометрический MALDI-TOF MS;
- молекулярно-биологический (ПЦР, секвенирование, филогенетический анализ);
- статистический.

Для проведения микробиологических исследований в биологическом материале использовались фекалии, мазки из ротоглотки и носоглотки. Пробы клинического материала исследовали методом качественно-количественного анализа с использованием дифференциально-диагностических сред отечественного производства (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, г. Оболensk). Культуры были идентифицированы по типичным биохимическим признакам традиционными методами, а также с применением бактериологического анализатора Vitek-2 (bioMerieux SA, France) и масс-спектрометрических исследований MALDI-TOF на базе оборудования Bruker Daltonik Microflex MALDI Biotyper

(Bruker, Germany) в строгом соответствии с инструкциями по их применению. Весь спектр микробиологических исследований был выполнен в ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора (совместно с д.м.н. А.В. Алешукиной, К.Г. Марковой).

Материалом для молекулярно-биологических исследований являлись фекалии больных и носителей НПЭВИ, ректальные мазки, а также пробы из ООС. Объектами лабораторного подтверждения НПЭВИ были обнаруженные РНК НПЭВ всех типов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real time) с использованием тест-систем «АмплиСенс® Enterovirus-FL» и «АмплиСенс® Enterovirus 71-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва) в соответствии с инструкциями по применению. Определение нуклеотидных последовательностей осуществлялось на генетическом анализаторе ABI PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems, США).

Для определения генотипов циркулирующих штаммов энтеровирусов осуществляли фрагментное секвенирование нуклеотидных последовательностей РНК штаммов энтеровирусов, выделенных из положительных ПЦР-образцов. Фрагментное секвенирование проводили по методу А. Сэнгера (1977г.). Молекулярное типирование энтеровирусов при фрагментном секвенировании основывалось на ОТ-ПЦР и определении нуклеотидной последовательности в области генома по 5' UTR (5' НТР) области РНК ЭВ с помощью специфических праймеров:

5' — ACACGGACACCCAAAGTAGTCGGTTCC — 3' (прямой праймер)

5' — TCCGGCCCCTGAATGCGGCTAATCC - 3' — (обратный праймер)

Генотип НПЭВ определяли сравнением полученных результатов секвенирования с имеющимися в банке генетическими последовательностями GenBank (NCBI) прототипных энтеровирусов человека. Филогенетический анализ выполняли методом «ближайших соседей» с помощью программы MEGA, v.5.2. Определение генотипов энтеровирусов и поиск ближайших гомологичных последовательностей проводили с помощью online-программы BLAST Национального центра биотехнологической информации США (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). В качестве референс-последовательностей использовали ранее охарактеризованные последовательности энтеровирусов, находящиеся в международной базе данных (GenBank) и обладающие максимальным сходством с исследуемыми образцами (исходя из отчетов программы «BLAST»). Оценку достоверности различий генетических характеристик штаммов определяли методом бутстрэп-анализа при 500 повторениях. Молекулярно-генетические исследования проб биологического материала и объектов окружающей среды были выполнены совместно с сотрудниками ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора (д.м.н. И.В. Корниенко, Д.С. Колпаков) и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» (А.Р. Литовко) на поверенном оборудовании. Секвенирование нуклеотидных последовательностей РНК штаммов энтеровирусов, выделенных из положительных ПЦР-образцов, осуществлялось совместно с сотрудниками лабораторий 2-х НИИ эпидемиологического профиля Роспотребнадзора: клинико-диагностической лаборатории ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» и лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций референс-центра по мониторингу энтеровирусных инфекций ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной».

С целью изучения влияния двухкомпонентного набора деконтаминационных растворов (ДКР) и дезинфицирующих средств («АсептПро», «Фармсепт», «Фориспот») на генетический материал возбудителя неполиомиелитной энтеровирусной инфекции (H. enterovirus) и разработки методических подходов по его деградации был исследован биологический материал (фекалии и ректальные мазки) от 33-х больных НПЭВИ в возрасте до 16 лет с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Дизайн исследования включал 3 этапа: описательно-статистические исследования, исследования в период вспышки НПЭВИ в 2013 г. и экспериментальное исследование (рисунок 1). При его разработке были учтены общепринятые принципы санитарно-эпидемиологического надзора за неполиомиелитной энтеровирусной инфекцией в соответствии с нормативными и

методическими документами. Анализ многолетней динамики заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области проведен по данным отчетных форм №1 и №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за период 2006-2022 гг. В качестве первичной документации использованы карты эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания и медицинские карты стационарных и амбулаторных больных НПЭВИ.

Анализ природно-климатических условий Ростовской области в период 2006-2022 гг. был проведен на основе данных официального сайта ФГБУ «Гидрометцентр России» (meteoinfo.ru). Сведения о миграции населения, включая туристические поездки и интенсивность пассажиропотока, получены на официальном сайте Федеральной службы государственной статистики по Ростовской области (rostov.gks.ru).



Рисунок 1- Дизайн исследования по изучению эпидемиологических аспектов НПЭВИ в Ростовской области

Статистическую и графическую обработки результатов исследования проводили с использованием стандартного программного обеспечения Microsoft Office 13 и с применением компьютерных программных пакетов STADIA (версия 6.5), SPSS Statistics Base 22.0 и Excel 2019, а также традиционных расчетов. Для распределения значений степени деградации РНК энтеровируса использовали параметрические критерии (Фишера, Стьюдента) и непараметрические статистические методы (тесты Омега-квадрат, Хи-квадрат, Колмогорова-Смирнова). Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$. Коэффициент корреляции вычислялся по методу Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Эпидемиологическая ситуация по неполиомиелитной энтеровирусной инфекции в Ростовской области в период 2006-2022 гг.

Анализ многолетней динамики заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области в 2006-2022 гг. показал, что она имела волнообразное течение с периодами снижения и подъема, связанных, по-видимому, со сменой циркулирующих генетических разновидностей возбудителя. В период с 2006 по 2012 гг. заболеваемость в области носила спорадический характер с регистрацией от 1 до 38 случаев в год (от 0,02 до 0,89 на 100 тыс. населения). Годовые показатели заболеваемости в указанный период были в 3,8-6,2 раза ниже общероссийских. В 2013 году в Ростовской области была зарегистрирована крупномасштабная

вспышка НПЭВИ, обусловленная высокопатогенным штаммом ЭВ А71. В указанном году отмечен самый высокий показатель заболеваемости данной инфекцией за 17-летний период наблюдения - 14,61 на 100 тыс. населения. Более подробный анализ вспышки 2013 года изложен в разделе 2. В период 2014-2022 гг. заболеваемость НПЭВИ в Ростовской области характеризовалась неравномерностью по годам и повторяла основные закономерности развития эпидемического процесса НПЭВИ по стране с выраженной тенденцией к снижению к 2022 г. Показатель заболеваемости находился в пределах 0,62 (в 2022 г.) - 7,43 на 100 тыс. населения (в 2017 г.) (рисунок 2).

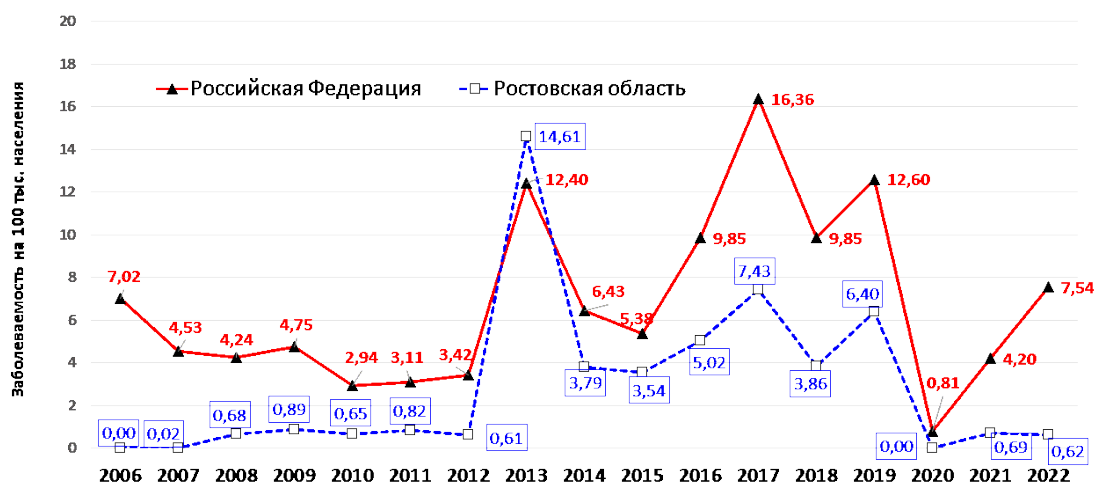


Рисунок 2 - Заболеваемость НПЭВИ в Ростовской области и Российской Федерации в период 2006-2022 гг.

Наиболее частой формой НПЭВИ, сопровождающейся поражением ЦНС, являлся энтеровирусный (серозный) менингит (ЭВМ), заболеваемость которым в Ростовской области в период 2006-2012 гг. не превышала 0,3 на 100 тыс. населения, а удельный вес варьировал от 15,4% в 2012 г. до 36,9% случаев в 2010 г., оставаясь при этом ниже аналогичного показателя в Российской Федерации. Доля ЭВМ в структуре клинических форм НПЭВИ в 2013 году была на уровне 15,3%, показатель заболеваемости составлял 2,2 на 100 тыс. населения. В период 2014-2022 гг. характер заболеваемости ЭВМ имел такую же картину, как и НПЭВИ с двумя подъемами в 2017 г. и в 2019 г. и колебаниями показателей от 0,1 в 2014 г. до 0,81 на 100 тыс. населения в 2017 г. и в 2019 г. В нозологической структуре НПЭВИ энтеровирусный менингит варьировал от 3,7% до 23,1%.

На долю больных НПЭВИ детей в период 2006-2012 гг. приходилось 55,5% случаев от общего числа заболевших. Чаще всего заболевание регистрировалось в возрастных группах 3-6 лет (25,2%) и 7-14 лет (29,3%). Уровень заболеваемости детей в этот период колебался от 0,14 в 2007 г. до 3,52 на 100 тыс. населения в 2011 г. В 2013 году удельный вес детей среди больных НПЭВИ составлял 95,2% с доминированием возрастной группы 3-6 лет (80,7%). При этом среди детского контингента был зарегистрирован максимальный показатель заболеваемости за весь анализируемый 17-летний период наблюдения - 79,77 на 100 тыс. населения. В 2014-2022 гг. доля детей больных НПЭВИ была также высокой (88,2%), и основной возрастной категорией оставались дети 3-6 лет (42,2%). Наиболее высокие показатели заболеваемости у них были отмечены в 2017 г. и 2019 г. (34,83 и 28,90 на 100 тыс. населения соответственно).

Анализ внутригодовой динамики НПЭВИ в Ростовской области показал, что максимальное число заболевших в период 2006-2012 гг. отмечалось в июле и августе (20,4% и 20,1% соответственно). В 2013 г. имело место смещение «пика» сезонности на июнь и июль, когда было зарегистрировано 73,1% всех случаев заболевания. В период 2014-2022 гг. сезонный подъем заболеваемости ежегодно начинался в мае-июне и заканчивался в ноябре с максимальными значениями в июле (21,3%), августе (25,2%) и сентябре (16,2%).

Результаты обследования 809 больных с подозрением на НПЭВИ и 115 контактных с помощью ПЦР в Ростовской области в 2006-2012 гг. показали, что среди больных выявлено 14,5% позитивных ответов, а среди контактных – 0,9%. При обследовании 10 008 больных и 974 контактных в 2014-2022 гг. установлено, что число положительных результатов было равно 13,7% и 6,4% соответственно. Доля позитивных лиц в указанный период исследования в группе больных была значительно ниже таковой в период эпидемического подъема заболеваемости НПЭВИ в 2013 г. (от 25,5% в целом за 2013 г. до 52,2% в очагах заболевания).

При изучении спектра и структуры генетических вариантов НПЭВ в период 2006-2012 гг. установлено, что в клиническом материале больных НПЭВИ преобладали вирусы ЕСНО (91,4%); удельный вес Коксаки В составил 5,7%; Коксаки А - 2,9%. В качестве этиологических агентов доминировали ЕСНО 30 (68,6%), ЕСНО 6 (8,6%) и ЕСНО 7 (7,1%). В 2013 г. в структуре НПЭВ в биологическом материале больных НПЭВИ преобладали ЭВ А 71 (64,9%) и Коксаки А (21,6%). На долю ЕСНО приходилось 9,4%; Коксаки В – 4,1% (рисунок 3). В пейзаже энтеровирусов, выделенных от больных и носителей НПЭВИ в области в период 2014-2022гг., преобладали Коксаки А – 46,8% и ЕСНО - 25,7%; удельный вес Коксаки В составил 19,4%, ЭВ А 71 - 8,1%. Среди циркулирующих штаммов в этот период доминирующими в клиническом материале были: Коксаки А6 (20,6%), Коксаки В5 (10,0%), Коксаки А16 (8,1%), ЭВ А71 (8,1%), Коксаки А4 (7,5%).

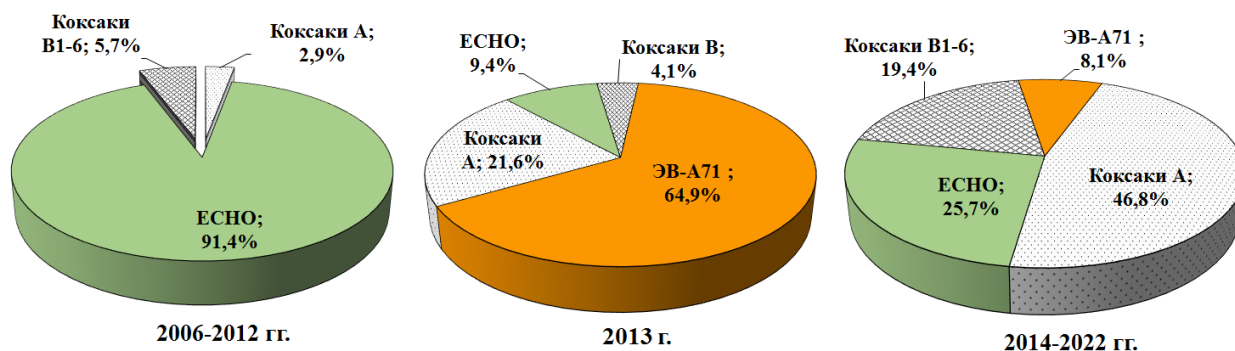


Рисунок 3 – Структура и спектр выделенных НПЭВ из биологического материала больных Ростовской области в различные периоды наблюдения

Санитарно-вирусологический мониторинг циркуляции НПЭВ в ООС (сточные воды) свидетельствовал о том, что в период 2006-2012 гг. их спектр в Ростовской области менялся практически ежегодно. Количество положительных находок колебалось от 0,8% в 2012г. до 6,4% в 2007г. В структуре НПЭВ присутствовали только ЕСНО (84,2%) и Коксаки В (15,8%) (рисунок 4). Чаще всего обнаруживали в сточной воде ЕСНО 7 (41,7%).

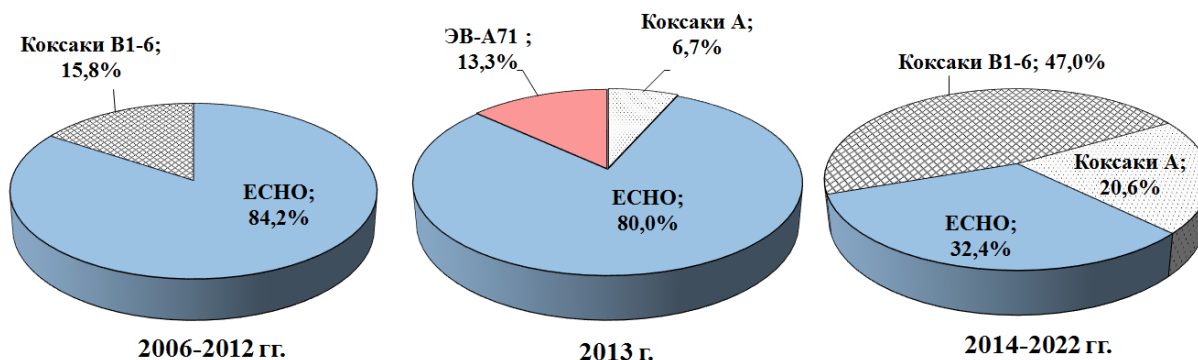


Рисунок 4 - Структура и спектр выделенных НПЭВ из объектов внешней среды в Ростовской области в различные периоды наблюдения

В 2013 г. частота обнаружения НПЭВ в сточной воде составляла 10,3%. Пейзаж НПЭВ был представлен 5-ю генотипами: ЕСНО 11, 23, 30; ЭВ А 71 и Коксаки А 24. Доля энтеровирусов ЕСНО составляла 80%; ЭВ А 71 – 13,3%; Коксаки А – 6,7%. В период 2014-2022 гг. частота детекции энтеровирусов в сточной воде колебалась от 1,3% в 2022г. до 6,3% в 2016г. В структуре НПЭВ преобладали Коксаки В - 47,0% и ЕСНО - 32,4%; Коксаки А составляли 20,6%. Доминирующими энтеровирусами выступали Коксаки В5 (23,6%), Коксаки В4 (14,7%), ЕСНО 30 (11,8%).

Во все годы наблюдения количество изолятов в пробах сточной воды было значительно меньше, а их спектр был менее разнообразен по сравнению с клиническим материалом, что обусловлено трудностью их детекции в данном субстрате из-за большого количества примесей и более коротких сроков сохранения в нем возбудителя [Канаева О. И., 2021]. Совпадение генотипов циркулирующих НПЭВ в клиническом материале и в ООС в период 2006-2012 гг. имело место только в 2007г. (ЕСНО 7). В 2013 г. геноварианты, обнаруженные в сточной воде, совпадали с таковыми в клиническом материале от больных и вирусоносителей в 40,0% случаев. В период 2014-2022 гг. пейзаж выявленных генотипов в пробах ООС, в основном, совпадал с их спектром в клиническом материале, но отличался, как и в прежние периоды, меньшим разнообразием (при максимальном количестве 6 и 11 соответственно). В отдельные годы (2016, 2019 и 2022 гг.) совпадение НПЭВ в обоих субстратах достигало 100%.

По результатам молекулярно-генетических исследований проб биологического материала от больных и из окружающей среды в Ростовской области в 2006-2022гг. определялись неполиомиелитные энтеровирусы 30 типов: Коксаки А 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 16, 24; Коксаки В1, 2, 3, 4, 5; ЕСНО 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 16, 17, 18, 20, 23, 25, 30; ЭВ А 71. В период наблюдения 2006-2012 гг. в структуре НПЭВ лидирующие позиции занимали вирусы ЕСНО (30, 6, 7); в период эпидемического подъема заболеваемости НПЭВИ в 2013 г. – ЭВ А71, а в период 2014-2022 гг. - Коксаки А (А6), Коксаки В (В5) и ЕСНО (30, 11).

Одной из задач настоящего исследования являлось изучение влияния миграционных процессов и природно-климатических факторов на проявления эпидпроцесса НПЭВИ в Ростовской области. Анализируя миграционные процессы в Российской Федерации в период, предшествующий вспышке НПЭВИ в 2013 г., обращает на себя внимание значительный рост интереса зарубежных туристов и, в первую очередь, представителей Азиатско-Тихоокеанского региона к посещению России. Так, по данным Федеральной службы государственной статистики, в 2012 г. в сравнении с 2011 г. туристический поток из Китая в Россию возрос на 47%, Японии на 18%, Австралии на 33% и Южной Кореи — на 3%. По данным официальной статистики, в 2012 г. взаимный турпоток Китая и России превысил 3,3 млн человек, а общее число иностранных граждан, въехавших в страну с различными целями, увеличилось на 13% и составило 28,1 млн человек. Всего за 5 лет с 2011 по 2015 гг. турпоток из Китая в нашу страну возрос с 233 тыс. до 1,3 млн человек, т. е. в 5,6 раза (рисунок 5).

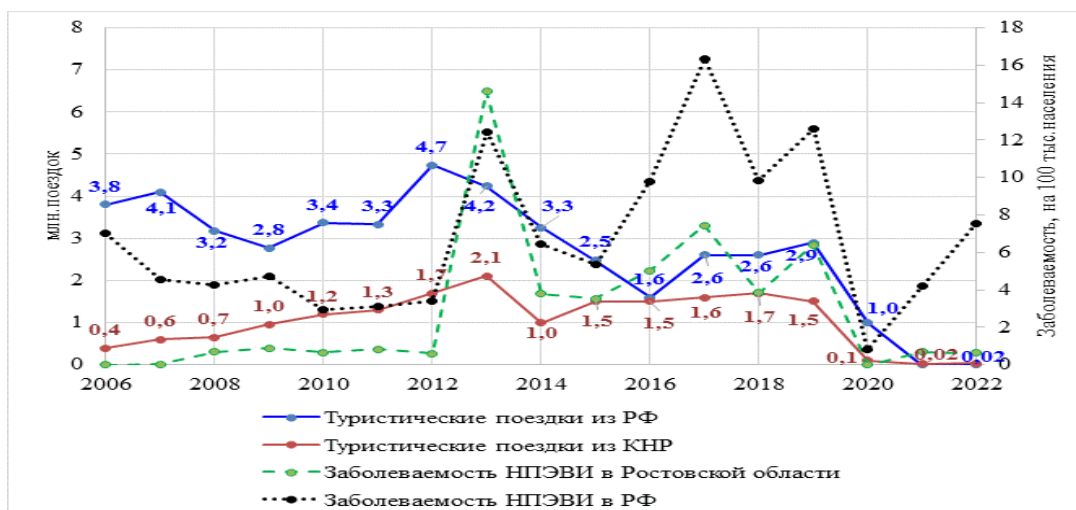


Рисунок 5 - Динамика трансграничных туристических поездок граждан РФ и поездок граждан КНР в Россию в период 2006-2022 гг. (млн. поездок)

Кроме того, в 2012-2013 гг. многократно увеличился поток туристов в Россию из Республики Вьетнам (в 2012г. - 174,3 тыс. человек - прирост 71,6%; в 2013г. - 291,1 тыс. человек - прирост 67,2%). В указанный период как в Китае, так и во Вьетнаме были зарегистрированы крупные вспышки НПЭВИ, вызванные ЭВ А71 типа - соответственно 3,5 млн и 150 тыс. заболевших. В анализируемый период в России оказалось около 5 млн. человек, прибывших из неблагополучных в эпидемиологическом отношении территорий по НПЭВИ. Выездной туристический поток из России в этот период составлял более 4,0 млн.

Проведенный нами корреляционный анализ позволил выявить прямую умеренную связь между показателями заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области в период 2006-2022 гг. и числом трансграничных поездок граждан Китая в Россию ($r=0,6$, $p<0,05$), что дает основание считать международную миграцию населения косвенным регулятором эпидемического процесса НПЭВИ. Аналогичная закономерность прослеживалась и в Ростовской области, где также было отмечено трехкратное увеличение числа лиц, прибывших из Китая. Так, в 2006 году в Ростовскую область прибыли 147 человек из Китая, а в 2011 году - 669.

Также важно подчеркнуть, что повышению интенсивности трансграничного сообщения и росту международного пассажиропотока способствовало расширение внешнеторговых связей России со странами Азиатско-Тихоокеанского региона, прежде всего – с Китаем. Так, в период с 2003 по 2013 годы товарооборот с КНР увеличился более, чем в 6 раз.

С учетом вышеизложенного, есть все основания считать, что одним из наиболее значимых факторов, способствующих заносу ЭВ А71 типа на территорию Ростовской области, является активизация миграционных потоков из стран Азиатско-Тихоокеанского региона в Россию и наоборот.

По мнению многих исследователей (Троценко О.Е. и др., 2014; Сергевнин В.И. и др., 2019; Wang J.F. et al., 2016), эпидемиологическая ситуация по НПЭВИ в значительной степени зависит от природно-климатических факторов. В этой связи нами была предпринята попытка выяснить характер взаимосвязи между значениями среднемесячной температуры в Ростовской области и показателями заболеваемости данной инфекцией.

По данным гидрометцентра Российской Федерации, апрель и май 2013 года признаны на территориях ряда федеральных округов самыми жаркими за всю историю метеонаблюдений. Среднелетняя температура в 2013 году в России получила 4-й ранг самых высоких зарегистрированных температур, немногим уступив лету 2011 и 2012 гг. Такая же закономерность была отмечена и в Ростовской области (рисунок 6). Среднемесячная температура мая составляла 21,2 °С, превышая таковую в другие годы на 2-5,7 °С, что способствовало смещению «пика» сезонности НПЭВИ в области и увеличению периода массового купания в водоемах области.

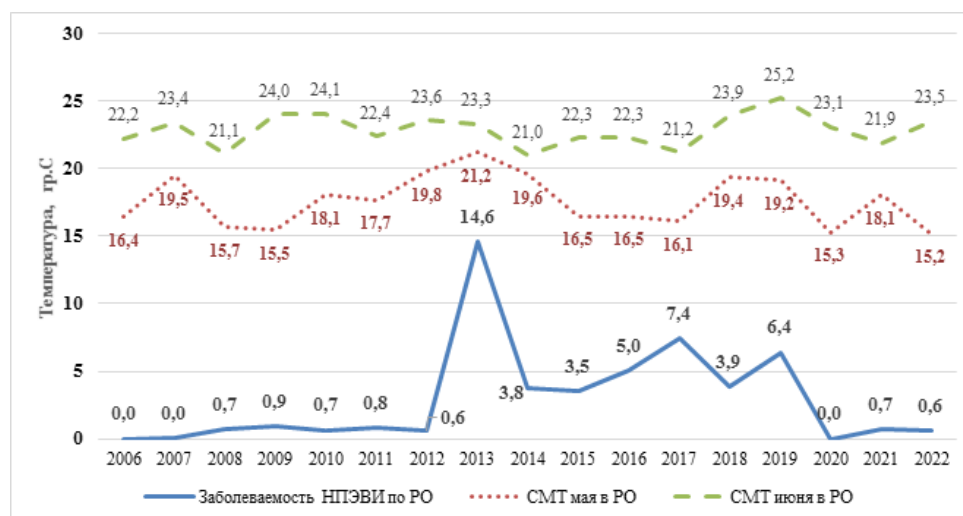


Рисунок 6 - Динамика заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области и среднемесячных температур в мае-июне в 2006-2022 гг.

Выявлено наличие прямой корреляционной взаимосвязи между подъёмом среднемесячной температуры в мае и ростом заболеваемости НПЭВИ в области ($r=0,5$; $p<0,05$). Как показали проведенные исследования, неблагоприятные тенденции изменения климата, связанные с повышением среднемесячных температур (СМТ), сопровождалась ростом заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области. Было установлено, что «пики» заболеваемости данной инфекцией регистрировались в 2013, 2019 гг., когда имела место наиболее высокая, аномальная для Ростовской области, температура воздуха. С нашей точки зрения, одним из возможных объяснений этому факту является высокая выживаемость энтеровирусов в таких климато-географических условиях.

2. Особенности эпидемического процесса неполиомиелитной энтеровирусной инфекции в Ростовской области в 2013 году

В динамике заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области за весь период наблюдения отмечен резкий ее подъем в 2013 году, который был обусловлен крупномасштабной вспышкой НПЭВИ с формированием локальных очагов в дошкольных образовательных учреждениях. В связи с этим она была детально проанализирована нами с учетом изучения эпидемиологических особенностей заболевания и биологических характеристик возбудителя. За период эпидемического неблагополучия в 2013 г. было зарегистрировано 622 случая (14,61 на 100 тыс. населения – в 1,2 раза выше показателя по РФ) НПЭВИ с вовлечением в эпидемический процесс разных возрастных групп населения, возникновением локальных вспышек и групповых заболеваний. Среди больных НПЭВИ основным контингентом были дети (95,2%) с превалированием возрастной категории 3-6 лет (80,7%), что полностью согласуется с данными других авторов (Кокурина К.О. и др., 2019; Новикова Н.А. и др., 2020; Перминова Л.А. и др., 2022).

Вспышка НПЭВИ была зарегистрирована в конце мая 2013 г. в одном из организованных коллективов г. Ростова-на-Дону, в МБДОУ № 83. Всего заболело в данном дошкольном учреждении 78 детей, из них НПЭВИ - 53 человека, ЭВМ - 25 человек. Один ребенок в возрасте 3 лет с симптомами менингоэнцефалита умер. Результаты посмертного вирусологического и бактериологического исследования биологического материала показали, что смерть его наступила от микст-инфекции - энтеровирусной и пневмококковой этиологии на фоне персистенции цитомегаловируса. При изучении особенностей клинического течения НПЭВИ установлено, что у подавляющего большинства больных детей (94,9%) заболевание характеризовалось острым началом и повышением температуры тела, своеобразной цикличностью с первоначальным появлением ящуроподобного синдрома «руки-ноги-рот» (HFMD) и последующим развитием у части пациентов патологии ЦНС (менингит - 32,0%, менингоэнцефалит - 7,2%).

У 80% пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением НПЭВИ, находящихся на стационарном лечении, в мазках из ротоглотки был обнаружен *Streptococcus pneumoniae* с совпадением масс-спектрометрических профилей, что является косвенным доказательством формирования стойкой вирусно-бактериальной ассоциации и может рассматриваться в качестве критерия неблагоприятного течения заболевания.

С целью оценки роли различных факторов в передаче инфекции были разработаны опросные листы для стандартизованного сбора эпиданамнеза у лиц, обратившихся за медицинской помощью. При проведении эпидемиологического расследования было выявлено, что детский сад № 83 расположен в спальном микрорайоне г. Ростова-на-Дону рядом с вещевым рынком «Темерник», где работают часто выезжающие за пределы России мигранты, дети которых посещали указанное детское учреждение. Проведенный анализ показал, что определенное эпидемиологическое значение могла иметь покупка вещей для детей на «восточном» рынке «Темерник», которое отметили 50% опрошенных лиц. В 44,4% случаев были установлены факты перебоев в подаче воды и приобретения продуктов в супермаркетах. В местах несанкционированной торговли покупали товары, в том числе и продукты питания, 22,0% опрошенных. В 28,8% анкет были указания на наличие контакта с больными детьми и взрослыми.

охарактеризованными в международной базе данных как энтеровирусы человека вида А Коксаки А16, обнаруженными на территории Китая.

Штаммы энтеровирусов А 71 типа, циркулирующие в Ростовской области, имели высокое генетическое родство со штаммами «китайского» происхождения 2008-2011гг., которые относились к субгенотипу 4С. Эти данные были подтверждены результатами полногеномного и фрагментного секвенирования еще в 3-х учреждениях Роспотребнадзора и РАН (ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)). По всей вероятности, штамм был занесен в Россию из Китая за 2-3 года до эпидемического подъема НПЭВИ в Ростовской области и циркулировал, не вызывая клинически регистрируемой заболеваемости. В Китае в 2008-2011гг. ежегодные эпидемии охватывали до миллиона детей с симптомами ящуроподобного заболевания, число погибших детей достигало 1000 в год [F. Zhu, et al., 2014].

Осложнение эпидемиологической ситуации по НПЭВИ в Ростовской области в 2013г. связано с циркуляцией нового высокопатогенного ЭВ А71, который ранее не встречался в регионе, что определило его высокое эпидемиологическое значение и послужило фактором широкого распространения. Заносу ЭВ А71 типа и распространению его на юге России могли способствовать активизация миграционных потоков из стран АТР в Россию, в т.ч. и в Ростовскую область, и наоборот, а также природно-климатические особенности юга России.

Характерной особенностью Ростовской области является активный характер миграционных потоков с постоянным расширением их масштаба. Этому способствует географическое расположение данного региона с благоприятным для проживания климатом, а также социально-экономические условия для реализации большого числа инвестиционных проектов, в том числе и зарубежных. В условиях сложившейся геополитической и экономической ситуации в мире расширяются торговоэкономические связи со странами АТР, и Ростовская область в этом отношении занимает активную позицию.

Полученные нами данные о завозе в Ростовскую область эпидемически значимого штамма ЭВ А71 типа из Китая указывают на необходимость оптимизации эпидемиологического надзора за НПЭВИ с учетом характера и активности миграционных потоков. Это становится возможным при условии тесного взаимодействия с миграционной службой региона.

Одним из разделов настоящего исследования являлась оценка экономического бремени в период эпидемического подъема заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области в 2013г. При расчете экономического ущерба учитывали недопроизведенный внутренний валовой продукт (ВВП) в связи с утратой трудоспособности взрослыми больными и родителями больных детей, преждевременной смертью ребенка в возрасте 3-х лет; расходы государства на оплату листов временной нетрудоспособности; стоимость стационарного и амбулаторного лечения. Интегрированный показатель экономического бремени НПЭВИ в Ростовской области в 2013г. составил, по нашим расчетам, 38 717 990 руб. Доминирующим компонентом среди слагаемых экономического ущерба, нанесенного экономике страны крупномасштабной вспышкой НПЭВИ в Ростовской области, являются потери государства от недоиспользования трудовых ресурсов в связи с преждевременной смертью в раннем возрасте.

3. Научно-обоснованные подходы к совершенствованию эпидемиологического надзора за неполиомиелитной энтеровирусной инфекцией и организационно-методическому сопровождению противоэпидемических (профилактических) мероприятий

Эффективность противоэпидемических мероприятий существенно зависит от своевременной диагностики, а ввиду отсутствия патогномичных клинических симптомов при НПЭВИ основное значение имеют молекулярно-генетические исследования. Для исключения ложноположительных результатов ПЦР предъявляются высокие требования к условиям проведения исследования. Проблема контаминации чужеродным генетическим материалом на разных этапах исследования является чрезвычайно значимой. Разработка новых высокоэффективных дезинфицирующих средств позволит значительно снизить вероятность контаминации и решить эту проблему с наименьшими временными и финансовыми затратами.

В связи с этим одной из задач диссертационной работы являлось осуществление экспериментального исследования по оценке эффективности разработанного нами двухкомпонентного набора деконтаминационных растворов («ДКР-1» и «ДКР-2») для неспецифической профилактики НПЭВИ.

Установлено, что инкубация ректальных мазков, содержащих РНК ЭВ А71 типа, с деконтаминационными растворами в течение 30 минут приводит к деградации генома возбудителя в 100% случаев (рисунок 8). В то же время инкубация фрагментов кала больных НПЭВИ с указанными растворами в течение 30 минут приводила к полной деградации РНК энтеровируса в значительно меньшем (42,9%) количестве проб. По-видимому, это связано с более высокой концентрацией возбудителя в нативном материале и нейтрализующим воздействием частиц кала на деконтаминационные растворы.

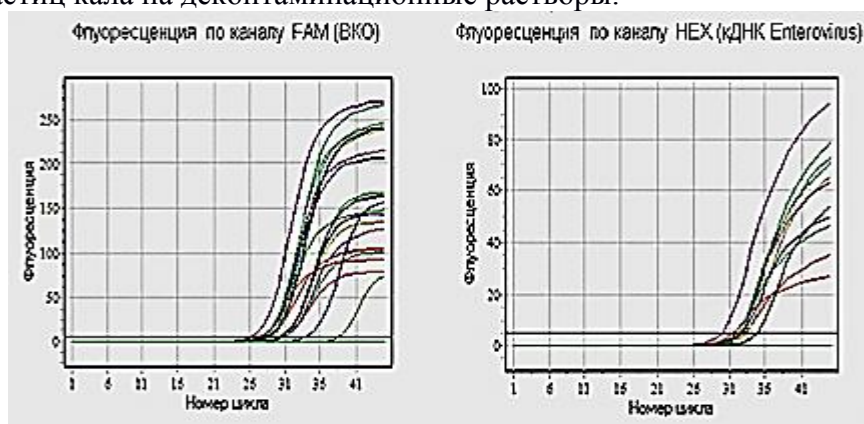


Рисунок 8 - Результаты ОТ-ПЦР, демонстрирующие влияние ДКР на генетический материал *H. enterovirus* в ректальных мазках от больных НПЭВИ

Для 8 образцов кала с неполной деградацией РНК энтеровируса определяли количественные значения разрушения генетического материала *H. enterovirus* под воздействием ДКР по формуле (1):

$$D = 2^{\Delta Ct} \quad (1),$$

где D — степень деградации РНК энтеровируса, ΔCt – разность между пороговыми циклами контрольных (без обработки ДКР) и опытных (после 30 минутной обработки ДКР) образцов.

Анализ полученных результатов исследований этих образцов показал, что 30 минутное совместное воздействие «ДКР-1» и «ДКР-2» на суспензию кала больных НПЭВИ в 5,4 раза снижает концентрацию активной РНК-матрицы.

При сравнении ДКР с другими коммерческими аналогами - «АсептПро», «Фармсепт» и «Фориспот» по степени выраженности вирулицидного действия выявлена его более высокая способность вызывать полную деградацию генома энтеровируса (в 2,4-6 раз) (таблица 2).

Таблица 2 - Частота регистрации полной деградации генома энтеровируса в биоматериале больных НПЭВИ (n=33) после 30-минутного воздействия дезинфицирующими средствами (в %)

Дезинфицирующие средства	Частота полной деградации генома НПЭВ (% M±m)	
	в фрагментах кала	в ректальных мазках
АсептПро	0	42,1±11,3
Фармсепт	7,1±6,9	42,1±11,3
Фориспот	14,3±9,4	42,1±11,3
ДКР	42,9±13,2*	100,0*

Примечание: * – различия достоверны при сравнении «ДКР -1,2» с другими дезинфектантами ($p < 0,05$)

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой вирулицидной активности разработанных нами деконтаминационных растворов. Их применение позволяет эффективно удалять РНК вируса с рабочих поверхностей, оборудования, снижая, тем самым, риск получения недостоверных результатов. Это имеет принципиально важное значение при проведении молекулярно-генетических исследований.

Результаты настоящего исследования легли в основу разработанного комплекса противоэпидемических и профилактических мероприятий, направленных на все звенья эпидемического процесса НПЭВИ в Ростовской области в период крупной вспышки заболевания в 2013 году, внедрение которого позволило в короткие сроки провести своевременную и эффективную диагностику с использованием современных молекулярно-биологических методов (ПЦР, секвенирование, филогенетический анализ), локализацию и ликвидацию очага инфекции, вызванной ранее не встречавшимся в регионе эпидемически значимым ЭВ А71 типа.

Материалы диссертационного исследования использованы при подготовке СанПин 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"; Плана оперативных мероприятий, утвержденного Главным государственным санитарным врачом по Ростовской области; Плана «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции в Ростовской области», утвержденного зам. Губернатора Ростовской области; Постановления Главного государственного санитарного врача по Ростовской области «О дополнительных мерах по профилактике энтеровирусной инфекции» и других документов. Для медицинских организаций был разработан опросный лист (анкета) больного НПЭВИ или лица с подозрением на НПЭВИ. В рамках санитарно-просветительной работы была составлена и размещена в средствах массовой информации, в том числе и в интернет-порталах, памятка по профилактике НПЭВИ.

В целях совершенствования эпидемиологического надзора за НПЭВИ в Ростовской области, а именно, в рамках информационной и диагностической подсистем на основе полученных в ходе выполнения диссертации данных, с учетом региональных особенностей разработан комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий, включающий блок-модуль «Организация противоэпидемических и профилактических мероприятий при спорадической заболеваемости и групповых вспышках НПЭВИ в Ростовской области», в котором отражен порядок проведения обследования очага и план мероприятий по его локализации, купированию вспышек и спорадических случаев заболевания (рисунок 9).

По итогам результатов проведенных исследований в дополнение к ранее проводимым мероприятиям по профилактике НПЭВИ в Ростовской области нами было предложено:

1. Осуществление анализа миграционной активности населения с учетом числа лиц, прибывающих из неблагополучных в эпидемиологическом отношении по НПЭВИ стран по данным Управления по вопросам миграции МВД России по Ростовской области.

2. Определение факторов риска возможного осложнения эпидемиологической ситуации по НПЭВИ в Ростовской области на основе результатов геномного мониторинга с оценкой генетического разнообразия циркулирующих штаммов возбудителей, являющихся маркерами эпидемиологического неблагополучия.

3. Использование результатов секвенирования проб биологического материала, ОВС и их филогенетический анализ при проведении эпидемиологического расследования групповых вспышек НПЭВИ с целью повышения его эффективности.

4. Применение деконтаминационных растворов («ДКР1,2») при проведении молекулярно-биологических исследований биологического материала и проб ОВС, что позволило повысить достоверность результатов лабораторных исследований.

5. Ввод в эксплуатацию установки ультрафиолетового обеззараживания сточных вод перед их сбросом в реку Дон (2014г.). С 2015 года вся вода перед поступлением в распределительную сеть также подвергается ультрафиолетовому облучению.

6. Использование гипохлорита натрия вместо жидкого хлора на ряде очистных сооружений водозабора в г. Ростове-на-Дону (ОСВ «Александровские», «Центральные»).

В рамках эпидемиологического надзора за НПЭВИ постоянно проводится мониторинг заболеваемости в области, молекулярно-эпидемиологический мониторинг биоматериала и санитарно-вирусологический мониторинг ОВС (сточные воды). Пробы сточной воды исследуются в 4-х точках — очистные сооружения гг. Ростов-на-Дону, Таганрог, Азов и Каменск-Шахтинск.

Реализация комплексного плана мероприятий по профилактике НПЭВИ в Ростовской области с использованием предложенных нами Блок-модуля и алгоритма взаимодействия медицинских организаций с органами и учреждениями Роспотребнадзора в Ростовской области привела к быстрому купированию крупной вспышки НПЭВИ в 2013 г., а в дальнейшем - к снижению уровня заболеваемости НПЭВИ в регионе (с 14,61 в 2013г. до 0,62 на 100 тыс. населения в 2022г.), снижению положительных находок возбудителя заболевания в пробах сточной воды (с 10,3% в 2013г. до 1,3% в 2022г.), сужению пейзажа неполиомиелитных энтеровирусов в объектах окружающей среды (до 1-3 в 2018-2022г.).



Рисунок 9 - Блок-модуль «Организация противоэпидемических и профилактических мероприятий при спорадической заболеваемости и групповых вспышках НПЭВИ в Ростовской области»

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что случаи неполиомиелитной энтеровирусной инфекции в Ростовской области за период 2006-2022 гг. (период наблюдения) регистрировались в области ежегодно (за исключением 2006 г. и 2020 г.). За период с 2006 по 2012 гг. превалировала спорадическая заболеваемость от 1 до 38 случаев в год или от 0,02 до 0,89 на 100 тыс. населения. В 2013 г. был зарегистрирован эпидемический подъем до 622 случаев (14,61 на 100 тыс. населения) с формированием локальных очагов в организованных коллективах и одним летальным исходом. В период 2014-2022 гг. наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости с 7,43 в 2017 г. до 0,62 на 100 тыс. населения в 2022 г. Появление новых случаев и групповых заболеваний НПЭВИ в Ростовской области было обусловлено активной циркуляцией эпидемически значимых неполиомиелитных энтеровирусов: ЕСНО 30, ЕСНО 7, ЕСНО 6 в период с 2006-2012 гг.; ЭВ А

71 типа в 2013 г.; Коксаки А6, Коксаки А16, Коксаки В5, ЕСНО 30, ЕСНО 11 - в период 2014-2022 гг.

2. Рост заболеваемости неполиомиелитной энтеровирусной инфекцией населения Ростовской области в 2013 г. связан с появлением и распространением нового, не регистрировавшегося ранее в области, энтеровируса человека вида А 71 типа субгенотипа 4С «китайского» происхождения - одного из наиболее патогенных генотипов НПЭВ. При изучении особенностей клинического течения этого заболевания в Ростовской области в период вспышки заболевания в 2013г. установлено, что у подавляющего большинства больных детей (94,9%) заболевание характеризовалось острым началом и повышением температуры тела, своеобразной цикличностью с первоначальным появлением ящуроподобного синдрома «руки-ноги-рот» и последующим развитием у части пациентов (37,4%) патологии ЦНС (менингит — 32,0%, менингоэнцефалит - 7,2%).

3. Филогенетический анализ позволил выявить в Ростовской области в 2013 г. 4 обособленные группы вирусов: 3 группы представлены нуклеотидными последовательностями РНК ЭВ А71 типа, выделенными от лиц из г. Ростова-на-Дону, г. Аксая и Октябрьского района Ростовской области, и 4-я группа — нуклеотидными последовательностями РНК энтеровирусов, выделенными от лиц в г. Таганроге и охарактеризованными в международной базе данных, как энтеровирусы человека вида А Коксаки А16. Выявление по результатам филогенетического анализа трех групп энтеровирусов А 71 типа с высокой степенью генетического сходства нуклеотидных последовательностей в каждой из них, при значительных отличиях генетических характеристик между группами, а также группы близких по генетическим характеристикам энтеровирусов Коксаки А16, дает основание предположить наличие условий для распространения инфекции, как минимум, в 4-х очагах, не связанных между собой.

4. Выявлена прямая умеренная связь между показателями заболеваемости НПЭВИ в Ростовской области и числом трансграничных поездок граждан Китая в Россию в период 2006-2022 гг. ($r=0,6$, $p<0,05$), что дает основание считать международную миграцию населения косвенным регулятором эпидемического процесса НПЭВИ. Установлено, что в весенне-летние месяцы (май, июнь) 2013 года регистрировалась аномально высокая температура воздуха. Определена взаимосвязь между подъемом среднемесячной температуры в мае и ростом заболеваемости НПЭВИ в области ($r=0,5$, $p<0,05$).

5. Доказана эффективность разработанного нами двухкомпонентного набора деконтаминационных растворов для деградации генетического материала возбудителя неполиомиелитной энтеровирусной инфекции. Инкубация ректальных мазков больных с деконтаминационными растворами, обозначенными как «ДКР-1» и «ДКР-2» в течение 30 мин. приводит к деградации генома вируса *H. enterovirus* в 100% случаев. Применение указанных растворов с целью неспецифической профилактики неполиомиелитной энтеровирусной инфекции позволяет эффективно удалять РНК возбудителя с рабочих поверхностей, оборудования и материалов, что снижает количество недостоверных результатов при проведении молекулярно-генетических исследований.

6. Реализация научно-обоснованного комплекса противоэпидемических и профилактических мероприятий с учетом региональных особенностей Ростовской области привела к снижению уровня заболеваемости неполиомиелитной энтеровирусной инфекцией (с 14,61 в 2013 г. до 0,62 на 100 тыс. населения в 2022 г.), снижению количества положительных находок в пробах сточной воды (с 10,3% в 2013 г. до 1,3% в 2022 г.), к сужению спектра неполиомиелитных энтеровирусов в объектах окружающей среды (до 1 - 3 в 2018 - 2022 гг.).

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Айдинов, Г.В. Современные микробиологические методы исследований в эпиддиагностике вспышечной заболеваемости [Текст] / Г.В. Айдинов, М.М. Швагер, В.Ю. Рыжков, **Е.В. Ковалев**, Т.А. Зыкова, Н.В. Янушевская //Научные труды Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана - Липецк, 2001. - Выпуск 2. - Ч.11. - С. 132-134.
2. Akhmadishina, L.V. Enterovirus A71 meningoencephalitis outbreak, Rostov-on-Don, Russia, 2013 [Text] / L.V. Akhmadishina, M.V. Govorukhina, **E.V. Kovalev**, S.A. Nenadskaya, O.E. Ivanova,

A.N. Lukashov //Emerging Infectious Diseases. – 2015. – Т. 21. – №. 8. – С. 1440-1443. DOI: 10.3201/eid2108.141084.

3. Лукашев, А.Н. Молекулярная эпидемиология энтеровируса 71 типа - возбудителя вспышки в Ростове-на-Дону в 2013 году [Текст] / А.Н. Лукашев, Л.В. Ахмадишина, О.Ю. Байкова, М.В. Говорухина, С.А. Ненадская, **Е.В. Ковалев**, А.П. Гмыль, О.Е. Иванова // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Москва, 2014. - Том I. - С. 390-391.

4. Яговкин, Э.А. Состояние и перспективы разработки вакцин для специфической профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции [Текст] / Э.А. Яговкин, Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, А.А. Мельникова, М.Ю. Соловьев, **Е.В. Ковалев**, Т.И. Твердохлебова, Г.В. Хмелевская, Л.В. Девтерова, Б.Ф. Вачаев, И.Л. Юрьева //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2016. - Т. 15. - № 4 (89). - С. 74-82. (из «Перечня ВАК...»)

5. Колпаков, Д.С. Использование молекулярно-генетических методов исследования для определения нуклеотидных последовательностей энтеровирусов, циркулировавших в Ростовской области в 2013 г. [Текст] /Д.С. Колпаков, **Е.В. Ковалев**, А.Б. Шемшура, Т.И. Твердохлебова, А.Г. Суладзе, Э.А. Яговкин // Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. - Ростов-на-Дону, 2016. - С. 86-89.

6. Алешукина, А.В. Вирусно-бактериальные ассоциации условно-здоровых детей разных возрастных групп [Текст] / А.В. Алешукина, Е.В. Голошва, С.А. Хуказова, Э.А. Яговкин, Т.И. Твердохлебова, **Е.В. Ковалев**, М.Ю. Соловьев // Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. - Ростов-на-Дону, 2016. - С. 175-179.

7. Энтеровирусная инфекция в южных субъектах Российской Федерации: эпидемиология, диагностика, клиника, профилактика: коллективная монография [Текст] / Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, Е.Б. Ежлова, В.Ю. Смоленский, Ю.В. Демина, А.А. Мельникова, М.Ю. Соловьев, **Е.В. Ковалев**, Т.И. Твердохлебова, Э.А. Яговкин, А.В. Алешукина, Д.С. Колпаков [и др.] / / под редакцией академика РАН, д.м.н., проф. Г.Г. Онищенко - Ростов-на-Дону, 2016. – 344 с.

8. **Ковалев, Е.В.** Особенности проведения санитарно-карантинного контроля на границе с Луганской и Донецкой областями Украины [Текст] / **Е.В. Ковалев**, Ю.В. Рыжков, О.Л. Лях // Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения: материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. - Москва, 2017. - С. 249-250.

9. **Ковалев, Е.В.** Проблемы энтеровирусной инфекции в Ростовской области [Текст] / **Е.В. Ковалев**, О.А. Самарина, М.В. Говорухина, М.М. Швагер, О.Г. Рубинчик // Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения: материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. - Москва, 2017. - С. 289-290.

10. **Ковалев, Е.В.** Проблемы энтеровирусной инфекции в Ростовской области [Текст] / **Е.В. Ковалев**, О.А. Самарина, М.В. Говорухина, М.М. Швагер, О.Г. Рубинчик //Инфекция и иммунитет. - 2017. - №5. - С.616. . (из «Перечня ВАК...»)

11. Журавлев, П.В. Комплексное изучение микробного риска возникновения острых кишечных инфекций при оценке эпидемической безопасности питьевого водопользования [Текст] / П. В. Журавлев, В. В. Алешня, **Е. В. Ковалев**, М. М. Швагер//Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 7. – № 3 (26). – С. 7-14. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13001 (из «Перечня ВАК...»)

12. **Ковалев, Е. В.** Эпидемиологические и клинические особенности энтеровирусной (неполио) инфекции 71 типа у детей в Ростове-на-Дону [Текст] / **Е.В. Ковалев**, Э.А. Яговкин, Г.Г. Онищенко, Э.Н. Симованьян, С.А. Ненадская, Т.И. Твердохлебова, Л.В. Девтерова //Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 7. – № 4 (27). – С. 44-51. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-14007 (из «Перечня ВАК...»)

13. Алешукина, А.В. Бактериальное обсеменение как фактор отягощения энтеровирусной инфекции (по материалам вспышки в детском комбинате «Теремок» города Ростова-на-Дону)

- [Текст] / А.В. Алешукина, Е.В. Голошва, К.Г. Маркова, И.С. Алешукина, Т.И. Твердохлебова, **Е.В. Ковалев** // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2018. – № 35. – С. 88-91.
14. **Kovalev, E. V.** Fecal-oral mechanism in the group and epidemic structures on the territory of the Rostov region within 10 years [Text] / **E. V. Kovalev**, E. G. Erganova, S. A. Nenadskaya, S.S. Slis', G. A. Miroshnichenko // Russian Journal of Infection and Immunity. – 2018. – Т. 8. – № 4. – С. 506. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-4-1.7 (из «Перечня ВАК...»)
15. **Ковалев, Е.В.** Эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией на территории Ростовской области [Текст] // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. – Нижний Новгород, 2019. – С. 77-79.
16. **Ковалев, Е.В.** Энтеровирусная инфекция в Ростовской области: молекулярно-эпидемиологические аспекты [Текст] // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермольевские чтения.» - Ростов-на-Дону, 2022. - С. 214-220.
17. **Ковалев, Е.В.** Влияние деконтаминационных растворов «ДКР-1,2» на генетический материал возбудителя энтеровирусной инфекции (Human enterovirus) [Текст] / **Е.В. Ковалев**, Д.С. Колпаков, Т.Г. Фалеева, О.Ю. Арамова, Т.И. Твердохлебова, С.Н. Иванова, А.Р. Литовко, И.В. Корниенко, Н.В. Алексанина // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермольевские чтения.» - Ростов-на-Дону, 2022. - С. 204-211.
18. Фалеева, Т.Г. Деконтаминационная обработка выделений человека, содержащих возбудителя энтеровирусной инфекции (Human enterovirus) [Текст] / Т.Г. Фалеева, И.В. Корниенко, О.Ю. Арамова, **Е.В. Ковалев**, Д.С. Колпаков, Т.И. Твердохлебова, С.Н. Иванова, А.Р. Литовко // Сборник материалов XII съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – Москва, 2022. - С.304-305.
19. **Ковалёв, Е.В.** Молекулярно-эпидемиологические и клинические аспекты энтеровирусной инфекции на юге России [Текст] / **Е.В. Ковалёв**, Т.И. Твердохлебова, Э.Н. Симованьян // Медицинский вестник Юга России. – 2023. - Т. 14. - №1. - С.83-92. DOI:10.21886/2219-8075-2023-14-1-83-92. (из «Перечня ВАК...»)
20. **Ковалёв, Е.В.** Энтеровирусная инфекция на юге России: клинико-эпидемиологические и социально-экономические аспекты [Текст] / **Е.В. Ковалёв**, Е.Б. Романова, У.А. Исенко, Т.И. Твердохлебова // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермольевские чтения.» - Ростов-на-Дону, 2023. - С. 260-266.
21. Носков А. К. Об истории медицинских обществ в России — Ростовское региональное отделение Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов [Текст] / А. К. Носков, С. В. Шлык, Г. Г. Харсеева, Ф. В. Логвин, **Е. В. Ковалев**, Н. В. Шитова, О. Н. Туева // Медицинский вестник Юга России. – 2023. – Т. 14. – №. 3. – С. 82-91. (из «Перечня ВАК...»)
22. Патент № 2810593 Российская Федерация, МПК С12Q1/68 (2006,01), А61L 2/18 (2006.01), С11D 3/395 (2006.01). Способ удаления РНК энтеровируса в биологическом материале с помощью деконтаминационных растворов [Текст]: N 2011125215/10 ; 2022131381 заявл. 01.12.2022 ; опубл. 27.12.2023, Бюл. № 36 / Корниенко И. В., Ковалев Е. В., Фалеева Т. Г., Арамова О. Ю., Твердохлебова Т. И., Колпаков Д. С., Литовко А. Р. – 16 с.