

*На правах рукописи*

**Залесских Артем Александрович**

**СОВРЕМЕННЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТИТА А  
В КРУПНОМ ГОРОДЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ  
И ПУТИ ОПТИМИЗАЦИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА**

14.02.02 – эпидемиология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Казань – 2018**

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении 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.

**Научный руководитель:**

**Быстрова Татьяна Николаевна** - доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Михайлов Михаил Иванович** - доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель лаборатории вирусных гепатитов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова»

**Шулакова Надежда Ивановна** - доктор медицинских наук, заведующий организационно-методическим отделом по эпидемиологии Департамента здравоохранения города Москвы

**Ведущая организация:** Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Защита состоится 28 февраля 2019 г. в 10:00 часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.198.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (по адресу 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49 «Б»).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49 «Б» и на сайте организации: [www.kazangmu.ru](http://www.kazangmu.ru).

Автореферат разослан «   » \_\_\_\_\_ 201\_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, доцент

Тaufеева Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Гепатит А (ГА) продолжает оставаться самой частой причиной вирусного гепатита. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире регистрируется более полутора миллионов случаев этого заболевания. В течение последних двух лет в странах Западной Европы, традиционно относящихся к низкоэндемичным территориям, зарегистрировано более 25 тыс. случаев этого заболевания (M.F. Gallone et al., 2017; K. Michaelis et al., 2017; J. Vaz et al., 2017). В Российской Федерации (РФ) ГА также относят к инфекциям, имеющим большое социально-экономическое значение. В 2017 г. инцидентность в целом по стране выросла на 25% и составила  $5,5^0/0000$ , при этом выросло на 20% число очагов групповой заболеваемости по сравнению с 2016 г. (Г.Н. Кареткина 2014; С.Л. Мукомолов, 2014; Т.Н. Быстрова и др., 2015; В.И. Покровский и др., 2016). Сохраняются выраженные различия показателя заболеваемости в субъектах страны: в 11 регионах заболеваемость превысила среднероссийский показатель в 1,5-4 раза. ГА в последнее десятилетие стойко занимает второе место после хронического гепатита С по величине экономического ущерба среди вирусных гепатитов. В 2017 г. он составил больше 1 миллиарда рублей (В.И. Покровский и др., 2016; Д.А. Хакимова, 2017). При этом регистрируемая заболеваемость отражает лишь клинически манифестные формы инфекции, скрывая ее истинную распространенность. По данным серологических исследований ежегодно в мире происходит несколько десятков миллионов заражений вирусом гепатита А (ВГА), что в десятки раз выше числа зарегистрированных случаев (ВОЗ, 2012; G. Vaughan et al., 2014; С.Л. Мукомолов, 2014).

Планирование профилактических и противоэпидемических мероприятий по предупреждению новых случаев ГА невозможно без рационального прогнозирования. Для краткосрочного прогноза уровня инцидентности ГА ранее применялись математические методы, основанные на данных регистрируемой заболеваемости предыдущего периода (М.Д. Алейник, 1984, В.А. Трифонов, 1985). Однако в современных условиях на фоне сильного снижения уровня инцидентности ГА точность такого прогнозирования не оценивалась.

Развитие молекулярно-генетических методов исследования в последние десятилетия привело к получению новых научных знаний о разнообразии геновариантов возбудителя ГА. Выделяют 6 генотипов ВГА, три из них патогенны для человека. Каждый генотип в свою очередь разделяется на два субтипа с характерными географическими особенностями. Вместе с тем, в России имеются единичные работы об исследованиях генотипической гетерогенности ВГА,

циркулирующего на различных территориях страны (С.Л. Мукомолов, 2003; О. Nainan et al., 2006; К.К. Кюрегян, 2012; В.П. Чуланов, 2013; А.Д. Неверов, 2014).

Вирусологический контроль за объектами хозяйственно-питьевого водоснабжения в отношении ВГА имеет особую актуальность в связи с преимущественно водным путем передачи инфекции, который обуславливает 60-70% как спорадической, так и вспышечной заболеваемости ГА (В.И. Покровский и др., 2016). Этап концентрирования ВГА является основополагающим в ходе санитарно-вирусологических исследований даже с использованием молекулярно-генетических методов детекции ВГА (Т.Н. Быстрова, 2006). При этом большинство внедренных в практику методик концентрирования вирусов из воды требуют совершенствования в направлении повышения надежности и эффективности (Т.А. Зыкова, 2006; L.A. Ikner et al., 2012; J.L. Cashdollar et al., 2013).

**Степень разработанности темы.** К настоящему времени накоплены знания об основных закономерностях проявлений эпидемического процесса ГА, которые были получены с помощью эпидемиологических, иммунологических, молекулярно-генетических методов исследования. Вместе с тем, систематические исследования в области изучения генотипической структуры возбудителя носят фрагментарный характер (С.Л. Мукомолов, 2003; В.П. Чуланов, 2013; А.Д. Неверов, 2014).

Актуальным является и совершенствование методической базы санитарно-вирусологического контроля за ВГА при проведении мониторинга водных объектов. Наиболее полно необходимым требованиям отвечает метод концентрирования вирусов с применением фильтрационных мембран, но его эффективность ограничена в случае работы с большими объемами воды естественных водоемов, содержащей большое количество механических примесей (Т.Н. Быстрова, 2006; Т.А. Зыкова, 2006; J.L. Cashdollar et al., 2013)

Выраженная автономность эпидемического процесса инфекции и произошедшие в последние десятилетия изменения в развитии эпидемического процесса ГА требуют изучения развития эпидемиологической ситуации в конкретных социально-экономических, климатических, санитарных и экологических условиях и временных рамках, что и определило направление исследований данной работы.

**Цель исследования:** характеристика особенностей эпидемического процесса ГА в условиях крупного города европейской зоны России в современный период и применение полученных знаний для оптимизации эпидемиологического надзора за данной инфекцией.

**Задачи исследования:**

1. Охарактеризовать интенсивность манифестного и латентного компонентов эпидемического процесса ГА в Нижнем Новгороде в 2007-2017 гг.

2. Изучить особенности проявлений эпидемического процесса ГА в современных социально-демографических условиях в сравнении с аналогичными показателями 1968-1993 гг., 1994-2006 гг.

3. Дать молекулярно-эпидемиологическую характеристику циркулирующих в Н. Новгороде генетических вариантов ВГА.

4. Усовершенствовать методику концентрирования ВГА с применением фильтрационных мембран из воды с большим количеством механических примесей.

5. На основании полученных результатов исследования разработать предложения для совершенствования эпидемиологического надзора за ГА.

### **Научная новизна**

Проведенные исследования позволили получить новые научные знания о количественных и качественных характеристиках эпидемического процесса ГА в последнее десятилетие на территории крупного города европейской части РФ.

В результате динамического мониторинга иммуноструктуры населения выявлены особенности проявления и интенсивность латентного компонента эпидемического процесса ГА в современных условиях.

Впервые использован комплексный подход к прогнозированию заболеваемости ГА. Показано, что для этого, кроме математического моделирования манифестного компонента эпидемического процесса, необходимо слежение за прямыми и косвенными признаками активизации циркуляции ВГА, распространенностью антител к ВГА (анти-ВГА) и напряженностью популяционного специфического иммунитета.

На основе опытов с культуральным ВГА получена сравнительная характеристика эффективности различных фильтрующих мембран и предфильтров, включая новые по отношению к описанным в методической литературе, для концентрирования ВГА в воде с большим количеством механических примесей.

Впервые методом секвенирования с применением оптимизированной методики амплификации фрагмента VP1-2A генома возбудителя получено представление о циркулирующих на территории Н. Новгорода в 2000-2017 гг. субтипах ВГА.

Научные данные, полученные в ходе исследований, были использованы для определения подходов совершенствования эпидемиологического надзора за ГА в современных условиях.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные знания о современных особенностях и эволюции эпидемического процесса ГА на территории Н. Новгорода могут быть использованы для планирования и проведения профилактических и противоэпидемических

мероприятий в регионе для предотвращения широкого распространения данной инфекции и снижения заболеваемости.

Результаты исследования подтверждают, что для наблюдения за скрытопротекающим компонентом эпидемического процесса ГА необходимо включить в систему эпидемиологического надзора за данной инфекцией динамическое наблюдение за долей иммунных по отношению к ВГА лиц как среди населения в целом, так и среди детей индикаторных возрастных групп. Также необходим мониторинг сточных вод до очистки на наличие рибонуклеиновой кислоты (РНК) ВГА на конкретной территории и/или отдельных ее районов.

Данные, полученные в ходе экспериментов по концентрированию ВГА в воде, позволяют рекомендовать к использованию в рамках вирусологического контроля водных объектов префильтры из полипропилена или картона и полиамидные мембраны для фильтрации воды естественных водоемов с большим количеством примесей.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости динамического слежения за генетической гетерогенностью ВГА, которое позволяет повысить качество эпидемиологической диагностики при обследовании эпидемических очагов за счет более точного установления связи случаев заболевания, идентификации источника инфекции, определения путей и факторов передачи.

Подготовлено 2 аналитических обзора «Молекулярно-генетическая характеристика гепатита А» (утвержден Ученым советом ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, протокол № 7/2 от 26.09.2013); «Молекулярно-эпидемиологические особенности гепатита А в России на современном этапе» (утвержден Ученым советом ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, протокол № 7 от 28.09.2018).

Материалы диссертации использованы для разработки пособия для врачей «Молекулярно-генетические технологии в эпидемиологическом надзоре за вирусными гепатитами» (одобрено Ученым советом ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, протокол №8 от 30.10.2014, утверждено Главным внештатным эпидемиологом Министерства здравоохранения РФ в ПФО Ковалишеной О.В. и руководителем ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области, Главным государственным врачом по Нижегородской области Кучеренко Н.С.). Получено 9 актов внедрения пособия для врачей в практическую работу органов Роспотребнадзора ПФО: ФБУЗ ЦГиЭ Республики Башкортостан (акт внедрения от 29.05.2018); ТУ Роспотребнадзора Республики Башкортостан (акт внедрения от 28.05.2018); ФБУЗ ЦГиЭ и ТУ Роспотребнадзора Республики Мордовия (акт внедрения от 29.05.2018); ТУ Роспотребнадзора Пензенской области (акт внедрения

от 28.05.2018); ТУ Роспотребнадзора Республики Чувашия (акт внедрения от 28.05.2018); ФБУЗ ЦГиЭ Удмуртской Республики (акт внедрения от 29.05.2018); ФБУЗ ЦГиЭ Республики Марий Эл (акт внедрения от 22.05.2018); ТУ Роспотребнадзора Республики Марий Эл (акт внедрения от 24.05.2018); ТУ Роспотребнадзора Самарской области (акт внедрения от 25.05.2018).

Результаты исследований были использованы в подготовке аналитических справок: «О прогнозе заболеваемости гепатитом А в Нижнем Новгороде в 2014 году» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области исх. ННИИЭМ № 242 от 20.03.2014г.); «О состоянии и прогнозе заболеваемости ГА в Нижегородской области в 2014 г., проведении мероприятий в период эпидемического риска» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области исх. ННИИЭМ № 351 от 15.04.2014 г.); «Алгоритм санитарно-вирусологического контроля водных объектов на наличие ВГА в период эпидемического риска» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области исх. ННИИЭМ № 351 от 15.04.2014 г.); «Молекулярно-эпидемиологическая характеристика гепатита А в Нижнем Новгороде на этапе формирования очередного эпидемического цикла» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области (исх. ННИИЭМ №452 от 11.06.2015 г.) и в ФБУЗ ЦГиЭ в Нижегородской области (исх. ННИИЭМ №453 от 11.06.2015 г.); «Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вирусных гепатитов в Нижнем Новгороде на современном этапе, прогноз заболеваемости, предложения по организации дополнительных профилактических и противоэпидемических мероприятий» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области, исх. ННИИЭМ №470 от 30.06.2016 г.); «Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита А, циркулирующего среди населения Нижегородской области» (направлена в ТУ Роспотребнадзора Нижегородской области, исх. ННИИЭМ №490 от 29.06.2018 г.).

Материалы работы используются в учебном процессе на кафедре эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины и кафедре профилактической медицины ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России при проведении занятий и чтении лекций студентам медико-профилактического, лечебного, стоматологического и педиатрического факультетов; интернам, клиническим ординаторам (акт внедрения от 08.11.2018).

#### **Методология и методы исследования**

В работе использовались эпидемиологические, лабораторные, включая молекулярно-генетические, статистические методы. Решение поставленных задач проводилось в четырех взаимосвязанных направлениях:

- характеристика интенсивности и особенностей проявления манифестного и латентного компонентов эпидемического процесса ГА в современных условиях (2007-2017 гг.) по сравнению с предыдущим периодом (1994-2006 гг.);

- модификация методологии генотипирования возбудителя и определение структуры генотипов ВГА, циркулирующего среди населения Н. Новгорода в 2000-2017 гг.;

- оптимизация методик индикации ВГА в воде для вирусологического контроля водных объектов, оценку специфичности и диагностической чувствительности отечественных коммерческих тест-систем для выявления РНК ВГА методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР);

- совершенствование научно-обоснованной системы эпидемиологического надзора за ГА на основе проведенных исследований.

Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости острых вирусных гепатитов (ОВГ) в Н. Новгороде проведен на основе официальных статистических данных форм отчетности №1, 2 ФБУЗ «ЦГиЭ по Нижегородской области». Анализ многолетней динамики инцидентности ГА проведен за весь период регистрации данной инфекции в Н. Новгороде с 1968 по 2017 гг., этиологической структуры ОВГ – с момента внедрения методов лабораторной специфической диагностики ГА и начала регистрации гепатита С с 1994 по 2017 гг. Всего проанализировано 348 ед. форм отчетности.

Истинная этиологическая структура ОВГ изучена путем исследования сывороток крови и образцов фекалий от больных с синдромом желтухи (n=144), поступивших в инфекционные стационары Н. Новгорода в межэпидемический по ГА период (2010 г.) методами иммуноферментного анализа (ИФА) и ОТ-ПЦР для выявления специфических маркеров различных этиологических форм вирусных гепатитов. Комплекс лабораторных тестов включал анти-ВГА иммуноглобулины класса М (IgM), анти-ВГЕ IgM, HBsAg, анти-Hbcore IgM, анти-ВГС, анти-ВГС-спектр, РНК вирусов гепатита А, С, G, ДНК ТTV.

Для оценки интенсивности скрытопротекающего компонента эпидемического процесса ГА изучена иммуноструктура населения Н. Новгорода в отношении ВГА в эпидемическую фазу эпидемического процесса ГА (2014 г.) и после нее в межэпидемический период (2017 г.) путем определения анти-ВГА у населения города. Наличие анти-ВГА иммуноглобулинов класса G (IgG) определялось методом ИФА в образцах сывороток крови от «условно здорового» населения возрастом 1-60 лет – детей из соматических стационаров и доноров крови в случае взрослого населения (n=1728).

В 2016-2017 гг. в рамках мониторинга циркуляции ВГА среди населения на наличие РНК ВГА было исследовано 120 проб сточной воды до очистки, отобранных в канализационных коллекторах отдельных районов Н. Новгорода. Концентрирование возбудителя в сточных водах проводили методом с использованием флизелиновых пакетов с макропористым стеклом, которые находились в непрерывном потоке воды в течение 3-7 суток. Полученные результаты сравнивались с инцидентностью ГА на соответствующих территориях.

С целью определения генотипа ВГА, циркулирующего среди населения Н. Новгорода, на наличие РНК ВГА исследован клинический материал (сыворотки крови, фекалии) больных гепатитом А, госпитализированных в инфекционные стационары Н. Новгорода в 2000-2017 гг. (n=384). Методология амплификации переменного участка VP1-2A генома возбудителя В.Н. Robertson была модифицирована путем изменения длины и локализации праймеров, а также условий полимеразной цепной реакции. Искомый фрагмент имел длину 249 пар нуклеотидов. Последовательности фрагмента генома (n=76) определялись методом секвенирования по Сэнгеру на автоматическом секвенаторе ABI Prizm. Полученные последовательности анализировались с помощью программного обеспечения MEGA6 и BLAST.

Наличие РНК ВГА во всех проведенных исследованиях проводили методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Предварительно проводилась оценка диагностической чувствительности тест-систем для ОТ-ПЦР отечественных производителей на культуральном и нативном ВГА.

Для исследований по совершенствованию методов концентрирования ВГА из речной воды с механическими примесями использовалась суспензия вируса в речной воде в различных концентрациях. В качестве источника вируса использовался пул культурального ВГА, штамм HAS-15, полученный в лаборатории эпидемиологии вирусных гепатитов ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора на культуре клеток почки эмбрионов макаки-резуса FRhK-4. В экспериментах применялись различные методы концентрирования вирусов в воде согласно указаниям в МУК 4.2.2029-05 «Санитарно-вирусологический контроль водных объектов». Для фильтрационного метода применялся аппарат напорной фильтрации (АФ-142К, «Владисарт», Владимир), объем пробы - 10 л., при избыточном давлении 2 атм. Проводилась оценка эффективности как различных модификаций данного метода концентрирования, так и новые типы мембран (МФАС-СВА №4, №5, производства «Владипор», Владимир; ФМПА, ФМНЦ, ФМПЭС, производства «Владисарт», Владимир, ММПА+, ММПА+М, производства «Технофильтр», Владимир).

В результате экспериментов установлено, что наиболее эффективной комбинацией мембран для фильтрации воды с большим количеством примесей являются картонные (КФБЖ), либо полипропиленовые (ПП-300) предфильтры и полиамидный фильтр ФМПА («Владисарт», Владимир) для основного этапа. Детекцию вируса целесообразно проводить методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Указанные расходные материалы позволяют ускорить процесс фильтрации в 5 раз, сохраняя чувствительность методики на прежнем уровне.

Для краткосрочного (до 1 года) прогнозирования уровня инцидентности ГА в период 1994-2017 гг., были применены два методических подхода (М.Д. Алейник, В.А. Трифонов, 1985), математического моделирования эпидемического процесса на основе данных регистрируемой заболеваемости: с определением максимальной стабильности, и с использованием уравнения регрессии между «ключевым периодом» (1 квартал текущего года) и годовым уровнем.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel, Statistica 6,0 с использованием методов вариационной статистики, исключением резко отличающихся величин, вычислением средних величин ( $M$ ) и стандартной ошибки ( $m$ ), критерия корреляции ( $r$ ). Относительные показатели представлены как  $M \pm 2m$ . Оценка степени различий показателей проводилась с помощью критерия Стьюдента ( $t$ ). Выявленные различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Личный вклад.** Обсуждение общей идеи диссертации, постановка основной цели и задач, выбор наиболее эффективных методов их решения, обсуждение полученных результатов осуществлялись автором совместно с руководителем д-ром мед. наук, проф. Т.Н. Быстровой. Соискателем самостоятельно и в полном объеме выполнены эпидемиологические исследования, осуществлен сбор клинического материала и проб внешней среды, проведены лабораторные исследования, эксперименты по концентрированию ВГА в воде, а также секвенирование генома ВГА, проанализированы полученные данные, проведена их статистическая обработка, сформулированы и обоснованы выводы, практические рекомендации, а также написана и оформлена рукопись.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Эволюция проявлений эпидемического процесса гепатита А на территории крупного города европейской части России в современных условиях характеризуется: сохранением доминирующей роли ГА в структуре ОВГ, значительным снижением заболеваемости, удлинением многолетних циклов, сглаживанием сезонных колебаний в межэпидемические годы, возвратом преобладания детей 7-14 лет в возрастной структуре заболеваемости. Латентный компонент эпидемического процесса ГА по-

прежнему преобладает над манифестным. При сохранении иммунологического профиля населения города в межэпидемическую фазу произошло снижение частоты обнаружения анти-ВГА в основном за счет возрастной группы 30-59 лет.

2. Выявление вируса гепатита А в сточных водах, повышение частоты выявления анти-ВГА в возрастных индикаторных группах населения (1-4, 5-9 лет) являются показателем активизации циркуляции возбудителя среди совокупного населения территории.

3. Показатели регистрируемой заболеваемости, скрытопротекающего компонента эпидемического процесса ГА, низкая иммунная прослойка по отношению к ВГА среди населения территории с одной стороны, и активизация циркуляции возбудителя с другой стороны, являются неблагоприятными прогностическими признаками и предвестниками осложнения эпидемической ситуации по гепатиту А.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Высокая степень достоверности полученных результатов диссертационной работы обусловлена анализом большого объема статистических данных по многолетней (50 лет) динамике заболеваемости ГА, оценке данных серологического и молекулярно-генетического мониторинга достаточного количества жителей Н. Новгорода как населения в целом, так и отдельных контингентов; использованием современных лабораторных методов исследования, характеризующихся высокой чувствительностью, специфичностью и объективностью, поддерживаемых форматом программного обеспечения используемого оборудования; проведением достаточного количества экспериментов по концентрированию ВГА в воде с применением различных фильтрационных мембран и их комбинаций, репрезентативных выборок. В работе использованы высокоинформативные методы статистической обработки результатов с применением пакета профессиональных программ статистического анализа. Выводы основаны на проверяемых данных; проведено сопоставление авторских результатов и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике.

Материалы работы представлены на I Всероссийской XII ежегодной научной сессии молодых ученых и студентов с международным участием «Современные решения актуальных научных проблем в медицине», Н. Новгород, 2013 г.; научно-практической конференции, посвященной 95-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной «Инновационные технологии в противоэпидемической защите населения» Н. Новгород, 2014 г. (получен диплом II степени в конкурсе молодых ученых); научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «От эпидемиологии к диагностике инфекционных заболеваний: подходы, традиции, инновации», Санкт-Петербург, 2014 г.; VI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Актуальные

проблемы эпидемиологии и профилактической медицины», Ставрополь, 2014 г.; VII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням, Москва, 2015. (получен диплом II степени в конкурсе докладов молодых ученых); XI съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения», посвященном 95-летию санитарно-эпидемиологической службы России, Москва, 2017 г.; Межрегиональной научно-практической конференции эпидемиологов ПФО в рамках XIX Международного форума «Качество и безопасность оказания медицинской помощи», Н. Новгород, 2018 г.

Диссертационная работа доложена и обсуждена на объединенном заседании Ученого совета и межлабораторного семинара ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, протокол №8.2 от 26.10.2018 г.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ для публикаций основных положений диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

**Связь темы диссертационной работы с планами научных исследований.** Исследования выполнялись в рамках Отраслевых программ и государственных заданий ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора в соответствии с утвержденными темами НИР, прошедшими государственную регистрацию:

1. «Молекулярно-генетические технологии в эпидемиологическом надзоре за вирусными гепатитами» 2011-2015 гг., гос. регистрация №01201175709;
2. «Молекулярно-эпидемиологическая характеристика и научное обоснование оптимизации системы контроля гепатитов А, В, С на современном этапе» 2016-2020 гг., гос. регистрация №АААА-А16-116040810127-9

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка цитируемой литературы и приложений. Работа иллюстрирована 24 рисунками и 14 таблицами. Библиографический указатель, включает 204 источника, в их числе 144 отечественных и 60 зарубежных авторов.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Определена этиологическая структура ОВГ в Н. Новгороде по данным регистрируемой заболеваемости Несмотря на существенное снижение заболеваемости, в 2007-2017 гг. ГА является преобладающей этиологической формой.

При этом вклад ГА в структуру ОВГ не изменился по сравнению с 1994-2006 гг., ( $56,1 \pm 13,3\%$  и  $50,8 \pm 9,2\%$  соответственно,  $p > 0,2$ ). Выявлены значительные колебания удельного веса ГА от  $16,7 \pm 2,2\%$  в 1999 г. до  $95,7 \pm 5,4\%$  в 2005 г. Увеличение доли ГА происходило в годы подъема заболеваемости этой нозологии, затем она закономерно снижалась в межэпидемические годы (рисунок 1).

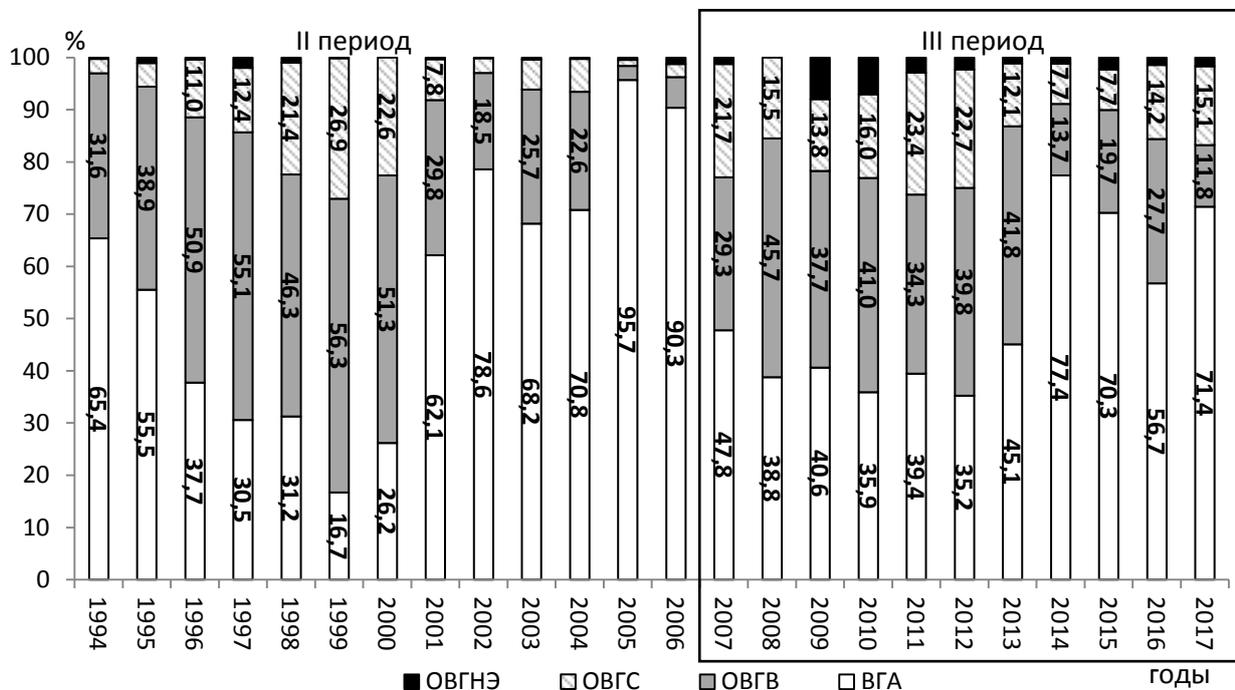


Рисунок 1 – Динамика этиологической структуры ОВГ на территории Н. Новгорода в 1994-2017 гг. (по данным официальной статистики)

В структуре заболеваемости ОВГ у детей возрастом до 14 лет доля ГА в целом преобладала над другими формами ОВГ, оставаясь доминирующей формой инфекции даже в межэпидемические годы. Среди взрослого населения средняя доля ГА была существенно ниже как в целом, так и в последние 10 лет ( $48,9 \pm 9,1\%$  и  $79,7 \pm 5,4\%$  и соответственно,  $p < 0,000001$ ). В межэпидемические годы ГА у взрослых уступал первое место в структуре ОВГ парентеральным гепатитам.

Оценка этиологической структуры ОВГ в Н.Новгороде по результатам определения специфических маркеров гепатитов А, В, С, Е, G, TTV в межэпидемический период выявила преобладание гепатитов В и С ( $58,3 \pm 5,4\%$ ). Доля ГА составляла  $16,3 \pm 3,6\%$ , что было ниже удельного веса этой инфекции по данным официальной статистики за этот период ( $35,9 \pm 3,8\%$ ).

При изучении динамики заболеваемости ГА в Н. Новгороде с 1968 г. по 2017 г. установлено, что показатели заболеваемости изменялись в значительном интервале от  $182,2^0/0000$  в 2005 г. до  $2,46^0/0000$  в 2012 г. Среднемноголетний показатель инцидентности составил  $65,15 \pm 13,13^0/0000$ , что ниже, чем по России в 1,65 раза ( $p < 0,003$ ). При выраженной многолетней периодичности в целом установлена

нисходящая тенденция с умеренным темпом снижения ( $T = -3,05\%$ ). В динамике регистрируемой заболеваемости ГА в Н. Новгороде выделено 3 периода (рисунок 2).

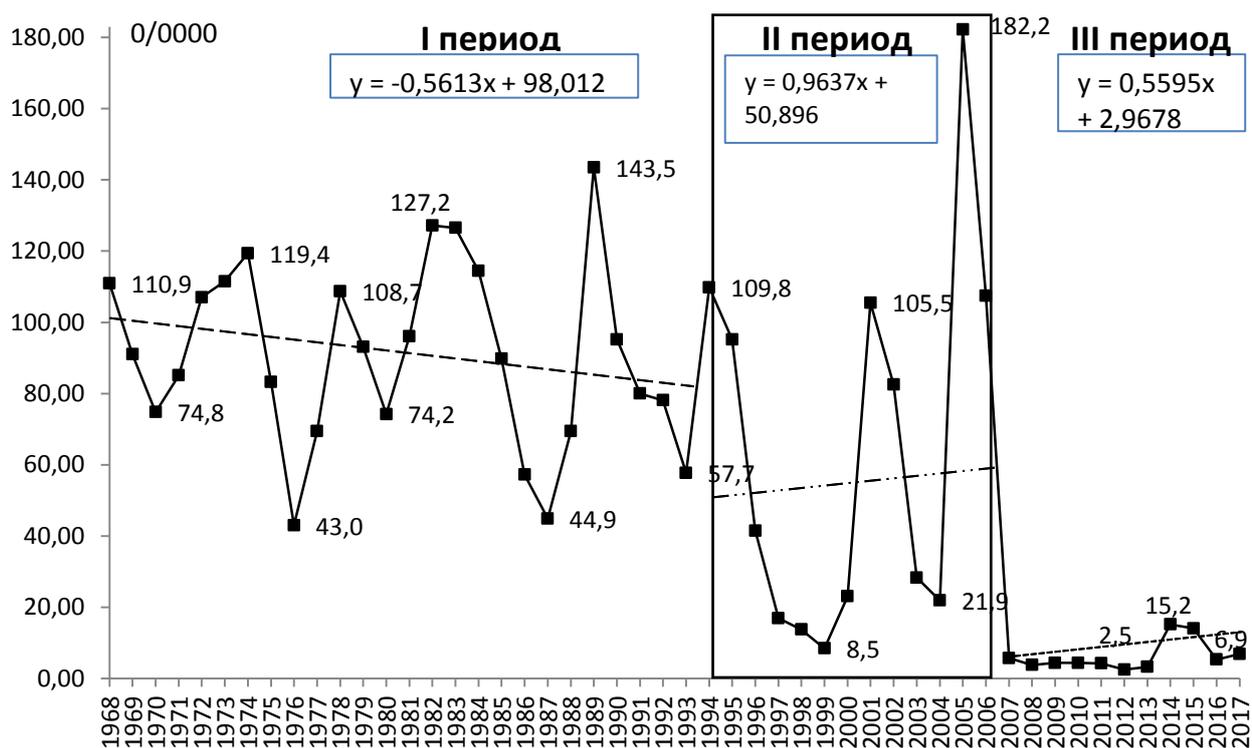


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости ГА в Н. Новгороде 1968-2017 гг. с обозначенными периодами эпидемического процесса

I период 1968-1993 гг. В течение этого периода диагноз вирусных гепатитов основывался на клинико-эпидемиологических данных за исключением гепатита В, в диагностике которого использовали тест на HBsAg. Установлено 4 полных цикла длительностью 4-7 лет, с тенденцией к стабилизации ( $T = -0,62\%$ ). Среднегодовая заболеваемость составила  $90,43 \pm 10,32^0/0000$ , с колебаниями годового показателя в пределах от  $43,0^0/0000$  до  $143,5^0/0000$ , и относительно небольшой амплитудой его колебаний от линии тренда.

II период 1994-2006 гг. С начала этого периода для диагностики ГА стал применяться тест на анти-ВГА IgM, что существенно повлияло на ее адекватность. За 13 лет насчитывается 2 полных многолетних цикла длительностью 5-7 лет. Среднегодовая заболеваемость составила  $57,64 \pm 23,87^0/0000$ , что в 1,6 раза меньше, чем в первом периоде ( $p < 0,012$ ). Наблюдается умеренная тенденция к росту ( $T = 1,67\%$ ) при существенно большей амплитуде колебаний инцидентности от  $8,46^0/0000$  до  $182,2^0/0000$ .

III период 2007-2017 гг. Современный период характеризуется достоверным снижением среднегодового показателя инцидентности ГА до  $6,32 \pm 2,6^0/0000$ , что в 9,1 раз ниже, чем в II периоде ( $p < 0,0001$ ). Уровень заболеваемости ГА колебался от  $2,46^0/0000$  (абсолютный минимум за весь период наблюдения) до  $15,19^0/0000$ . Тенденция

в III периоде характеризуется выраженным ростом ( $T=8,8\%$ ). Десятилетие представлено всего одним многолетним циклом, включающим межэпидемический период длительностью 7 лет и трехлетнюю эпидемическую фазу.

Установлено, что в III периоде сезонный подъём заболеваемости ГА в эпидемическую фазу начинается в октябре, а продолжительность его составляет 6 месяцев. По сравнению с I и II периодами отмечается сдвиг начала сезонной заболеваемости на октябрь и бóльшая продолжительность сезона. В годы с низким уровнем заболеваемости ГА наблюдается смещение начала сезонного подъема на февраль, сокращение его до 4 месяцев, а также наличие внесезонных подъемов в июне и сентябре. Такая динамика обнаруживается на фоне беспрецедентно низких годовых показателей и не характерна для предыдущих периодов эпидемического процесса ГА.

При сравнительной оценке заболеваемости ГА по отдельным районам Н. Новгорода за период 1971-2017 гг. выявлено, что тенденция заболеваемости во всех районах была однонаправленной и подчинялась тем же колебаниям. Достоверного различия среднегодового показателя заболеваемости между отдельными районами, а также между заречной и нагорной частями не выявлено. Несмотря на это, динамика показателей отдельных районов города в III периоде имела значительные отличия в темпах прироста/снижения годовых показателей, и демонстрировала более высокие годовые уровни заболеваемости в эпидемическую фазу цикла в районах заречной части города и особенно в Сормовском районе. В 2014-15 гг. уровень заболеваемости в нагорной части был ниже заречной в 1,7 ( $p<0,003$ ) и 1,6 ( $p<0,01$ ) раза соответственно. При этом эпидемическая фаза не наступала синхронно, достигая максимума в разные годы.

Среднегодовые показатели инцидентности в разных возрастных группах в III периоде составили в группе 0-2 года –  $3,9\pm 2,7^0/0000$ , 3-6 лет –  $8,8\pm 4,4^0/0000$ , 7-14 лет –  $8,5\pm 4,6^0/0000$ , 15-17 лет –  $7,4\pm 4,1^0/0000$ , старше 18 лет –  $6,5\pm 2,4^0/0000$ . Возрастная структура заболеваемости претерпевала существенные изменения в разные периоды эпидемического процесса ГА. В I период динамика эпидемического процесса определялась в основном заболеваемостью среди детей 3-14 лет. Во II периоде этот сдвиг доминирующей возрастной группы вправо сместился на группу детей 15-19 лет и взрослых старше 20 лет, что особенно было заметно в годы подъема заболеваемости. В III периоде как в годы подъема, так и спадов заболеваемости, в структуре заболеваемости вновь доминируют группы детей 3-6 и 7-14 лет. В период 1992-2017 гг. установлена достоверная умеренная прямая корреляционная связь средней силы между заболеваемостью ГА и удельным весом детей до 14 лет ( $r=0,55$ ,  $p<0,05$ ).

При оценке истинной распространенности эпидемического процесса ГА установлено, что в 2014 г. анти-ВГА обнаруживались у  $30,9 \pm 1,9\%$  населения Н. Новгорода. В 2017 г. доля иммунных лиц снизилась до  $24,8 \pm 1,6\%$  ( $p < 0,02$ ) в основном за счет возрастной группы 30-59 лет. Иммунный профиль населения в целом соответствует уровню заболеваемости в III периоде и характерен для территорий с низким уровнем эндемичности по классификации ВОЗ. Обнаружена прямая корреляционная связь средней силы между уровнем заболеваемости ГА в Н. Новгороде в год, предшествующий анти-ВГА скринингу и частотой обнаружения анти-ВГА в период 1984-2017 гг. ( $r=0,57$ ,  $p < 0,05$ ).

Как и в предыдущие периоды, частота обнаружения антител к ВГА растет с возрастом. Минимальная частота обнаружения антител выявлена в возрастной группе 5-9 лет, где в 2014 и 2017 г. она составила  $7,0 \pm 3,0\%$  и  $6,6 \pm 2,4\%$  соответственно, а максимальная – в группе 50-59 лет ( $71,1 \pm 6,8\%$  и  $48,1 \pm 5,6\%$  соответственно).

В связи с тем, что величина иммунной прослойки не постоянна и находится в зависимости от заболеваемости ГА, сравнение показателей разных периодов проводилось отдельно по соответствующим фазам эпидемического процесса. Для 2014 г. (периодический подъем заболеваемости, рисунок 3) сравнение проводилось с 1994 г., а для 2017 г. (межэпидемический период, рисунок 4) – с 1998 г. Превалентность анти-ВГА в 2014 г. и 1994 г. не отличалась ( $30,9 \pm 1,9\%$  и  $35,3 \pm 2,4\%$  соответственно,  $p > 0,05$ ). В то же время уровень инцидентности снизился в 7 раз. Это свидетельствует о сохранении в годы подъема заболеваемости интенсивности эпидемического процесса ГА на том же уровне в основном за счет бессимптомных форм инфекции.

Частота обнаружения анти-ВГА в 2017 г. была меньше, чем в 1998 г. ( $24,8 \pm 1,6\%$  и  $51,5 \pm 1,9\%$  соответственно,  $p < 0,001$ ). Таким образом, в межэпидемическую фазу III периода интенсивность эпидемического процесса ГА снизилась как за счет манифестного, так и латентного компонентов эпидемического процесса.

Обращает на себя внимание факт достоверного ( $p < 0,02$ ) уменьшения в 2017 г. частоты обнаружения анти-ВГА после прошедшего эпидемического периода по сравнению с 2014 г., которому предшествовала длительная межэпидемическая фаза. Это может быть проявлением автономности эпидемического процесса ГА, выразившейся в том, что последний многолетний подъем заболеваемости был сформирован за счет поражения отдельных районов, оставив существенную часть населения в целом не вовлеченной в эпидемический процесс.

При сравнении частоты выявления анти-ВГА в разных возрастных группах в последнее десятилетие в эпидемические годы наблюдается значительное снижение частоты выявления анти-ВГА за счет группы взрослых 40-49 лет. В остальных

группах уровень достоверно не отличался. Во время межэпидемической фазы наблюдается еще более значительное снижение распространенности антител в возрастных группах 30-39, 40-49 и 50-59 лет более чем в 2 раза ( $50,9 \pm 4,9\%$  и  $22,5 \pm 5,0\%$ ;  $80,9 \pm 2,8$  и  $32,5 \pm 5,3$ ;  $97,7 \pm 2,6\%$  и  $48,1 \pm 5,6\%$  соответственно). В 2017 г. иммунная прослойка среди всего населения составляла менее 50%.

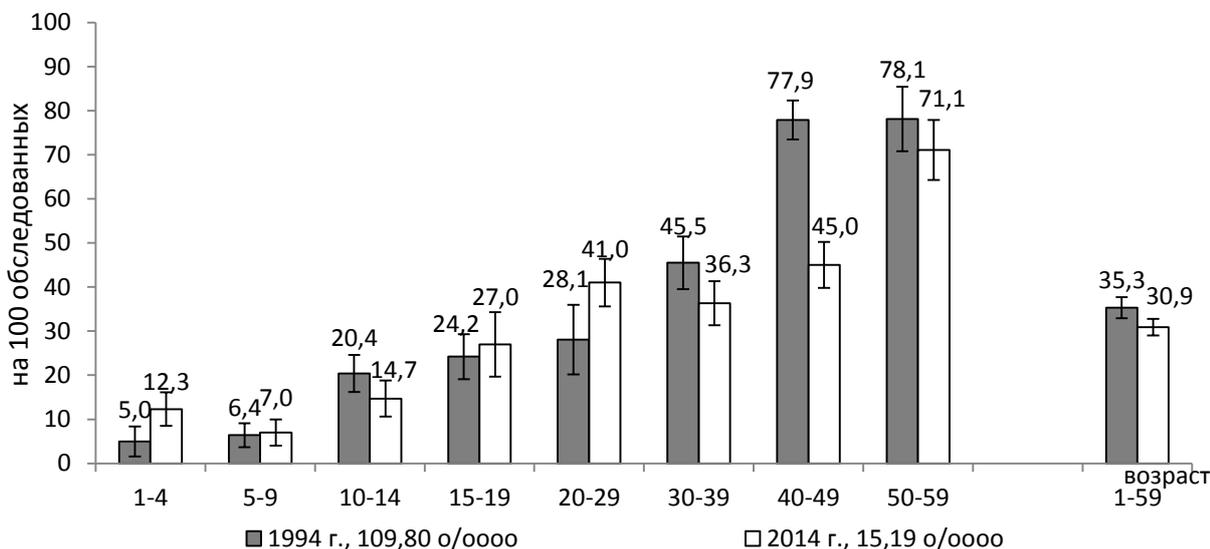


Рисунок 3 – Превалентность анти-ВГА у здорового населения в годы периодического подъема заболеваемости (на 100 исследований,  $M \pm 2m$ )

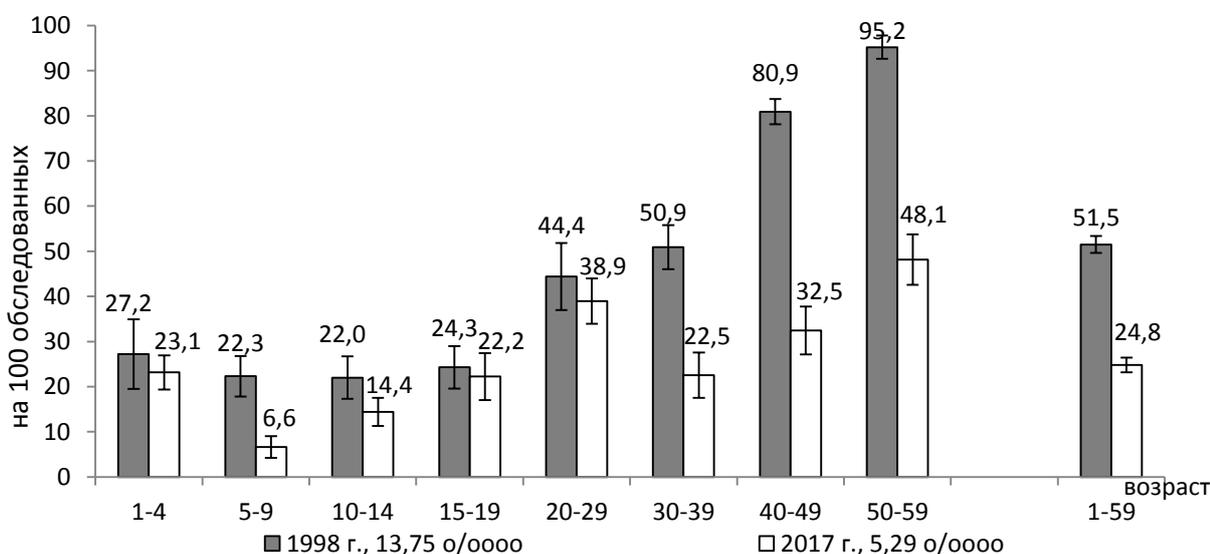


Рисунок 4 – Превалентность анти-ВГА у здорового населения ГА в межэпидемическую фазу (на 100 исследований,  $M \pm 2m$ )

При динамическом исследовании иммунитета в индикаторных группах детей возрастом 1-4 г. и 5-9 л. в Н. Новгороде выявлено увеличение частоты обнаружения анти-ВГА в 2013 г. по сравнению с 2012 г. в 4 и 5 раз соответственно. Рост доли иммунных в этих возрастных группах в 2013 г. являлся показателем активизации циркуляции вируса гепатита А в популяции, и позволил сделать прогноз пятикратного роста заболеваемости в 2014 г.

Изучение распространенности анти-ВГА на отдельных территориях Н. Новгорода выявило, что частота обнаружения антител к ВГА в индикаторной возрастной группе 1-9 л. в 2014 г. была в 5 раз выше в заречной части по сравнению с нагорной ( $2,9 \pm 2,0\%$  и  $16,2 \pm 4,3\%$  соответственно,  $p < 0,01$ ). Это обстоятельство вместе с более высокой заболеваемостью ГА в эпидемические годы свидетельствует о том, что заречная часть по-прежнему остается территорией риска по отношению к нагорной.

С использованием оптимизированной методологии амплификации участка генома VP1-2A и последующего генотипирования среди населения Н. Новгорода в период 2000-2017 гг. показана исключительная циркуляция I генотипа вируса гепатита А. Установлено преобладание субтипа IA ( $97,4 \pm 3,67\%$ ), только 2 изолята принадлежали субтипу IB ( $2,6 \pm 3,67\%$ ). Генотипическая структура оставалась неизменной как в межэпидемические периоды, так и в годы подъема заболеваемости, включая крупную водную вспышку в 2005 г., обусловленную двумя штаммами субтипа IA. Гомология всех изолятов ВГА субтипа IA составляла более 93% с последовательностями, выделенными в европейской части России. Образцы ВГА субтипа IB, обнаруженные в 2002 и 2010 гг., имели максимальную гомологию с изолятами, выделенными в Египте и Болгарии. Эти нетипичные для Н. Новгорода геноварианты вируса, очевидно, были завезены из стран Средиземноморья, эндемичных для данного субтипа и являющихся популярными туристическими для РФ направлениями.

В современных условиях апробированы методики краткосрочного прогнозирования заболеваемости ГА, основанные на определении периода максимальной стабильности и расчета уравнения регрессии между «ключевым периодом» и годовым уровнем. Обе методики показали хорошие результаты в I периоде эпидемического процесса, когда удовлетворительная точность в обоих случаях была получена в 93% прогнозов. В II и III периодах методика определения максимальной стабильности позволила прогнозировать годовой показатель с удовлетворительной точностью лишь в 27,3%, а с использованием уравнения регрессии - 54,6%. Таким образом, прогнозирование заболеваемости, основанное на математических расчетах и учитывающее только манифестный компонент эпидемического процесса ГА, имеет ограниченное значение в современных условиях с низкой заболеваемостью. Поэтому для предэпидемической диагностики лучше проводить обнаружение предвестников осложнения эпидемической ситуации ГА. При этом своевременное выявление таких предпосылок возможно лишь по результатам динамической оценки их количественных параметров в сопоставлении со среднелетними и рассчитанными для изучаемой территории. Так было установлено, что превышение уровня антител над пороговым свидетельствует об

активизации скрытопротекающего компонента эпидемического процесса ГА. Для III периода пороговый уровень в индикаторных группах возрастом 1-4 и 5-9 лет составил 17,2% и 18,2% соответственно. В 2013 г. частота обнаружения анти-ВГА в вышеуказанных возрастных группах превысила эти показатели (29,2% и 25,6% соответственно), что позволило сделать прогноз наступления в Н. Новгороде многолетнего эпидемического периода.

Динамический вирусологический мониторинг сточных вод до очистки на наличие РНК ВГА является еще одним эффективным инструментом выявления активизации циркуляции возбудителя среди населения. В результате ежемесячного мониторинга в 2016-2018 гг. было обнаружено 13% позитивных на РНК ВГА проб сточной воды. В большинстве случаев находки вируса сопровождалось зарегистрированными случаями ГА в том же месяце и районе города, особенно при учете данных первоначальных диагнозов. При этом частота обнаружения вируса за пять месяцев 2018 г. возросла по сравнению с 2017 г. в 3 раза (27,6% и 9,8% соответственно,  $p < 0,05$ ). Увеличение частоты обнаружения возбудителя в объектах внешней среды является предвестником санитарно-эпидемиологического неблагополучия по ГА в Н. Новгороде.

С учетом полученных результатов в современных условиях оптимизация системы эпидемиологического надзора за ГА должна включать введение дополнительных информационных потоков в вирусологический и серологический мониторинги в рамках информационной подсистемы, а также использование комплексного подхода для оценки эпидемиологического риска ГА в процессе предэпидемической диагностики в рамках диагностической подсистемы.

## **ВЫВОДЫ**

1. На основе многолетних наблюдений выявлены значительные изменения проявлений манифестного компонента эпидемического процесса ГА на территории крупного города Европейской части России – Н. Новгорода в современных условиях. В 2007-2017 гг. отмечено снижение интенсивности эпидемического процесса в 9 раз по сравнению с предшествующим в 1994-2006 гг. периодом ( $6,32 \pm 2,6^0_{/0000}$  и  $57,64 \pm 23,87^0_{/0000}$  соответственно). Установлено удлинение многолетних циклов до 10 лет, в т.ч. межэпидемической фазы до 7 лет. В возрастной структуре заболеваемости ГА вновь преобладают группы детей 3-6 и 7-14 лет, а также отмечено сглаживание сезонных колебаний показателя инцидентности в межэпидемические годы, и в возрастной группе взрослых старше 18 лет.

2. Динамический серомониторинг иммуноструктуры населения свидетельствует о том, что скрытый компонент эпидемического процесса ГА по-прежнему преобладает над манифестным. В 2014 г. анти-ВГА были выявлены у  $30,9 \pm 1,9\%$

населения города, а в 2017 г. превалентность антител снизилась до  $24,8 \pm 1,6\%$ . Частота обнаружения анти-ВГА растет с возрастом. Минимальный показатель выявлен в группе детей 5-9 лет, ( $7,0 \pm 3,0\%$  и  $6,6 \pm 2,4\%$  в 2014 и 2017 гг. соответственно). Наибольшее число иммунных к ВГА лиц выявлено в группе возрастом 50-59 лет ( $71,1 \pm 6,8\%$  и  $48,1 \pm 5,6\%$  в 2014 и 2017 гг. соответственно).

3. Частота выявления антител к ВГА не является постоянной величиной и зависит от инцидентности ГА в предшествующий период. В современных условиях при сохранении иммунологического профиля населения Н. Новгорода в межэпидемическую фазу произошло снижение серопревалентности по сравнению с прошлым периодом. Этот показатель уменьшился с  $51,5 \pm 1,9\%$  в 1998 г. до  $24,8 \pm 1,6\%$  в 2017 г. ( $p < 0,001$ ) в основном за счет возрастной группы 30-59 лет. В годы подъема заболеваемости статистически значимых отличий серопревалентности между этими периодами не наблюдалось ( $30,9 \pm 1,9\%$  и  $35,3 \pm 2,4\%$  в 2014 и 1994 гг., соответственно,  $p > 0,05$ ).

4. В этиологической структуре ОВГ за период 2007-2017 гг. не выявлено достоверных различий удельного веса ГА по сравнению с 1994-2006 гг. ( $50,8 \pm 9,2\%$  и  $56,1 \pm 13,3\%$  соответственно,  $p > 0,05$ ). Вместе с тем сохраняются значительные колебания удельного веса ГА с  $35,2 \pm 1,7\%$  до  $77,4 \pm 2,5\%$  в зависимости от фазы его эпидемического процесса. Инфекция продолжает оставаться преобладающей этиологической формой у детей даже в годы спада заболеваемости ( $73,4,9 \pm 8,2\%$ ), при этом колебания удельного веса ГА в возрастной группе до 14 лет составили от  $50,0 \pm 10,1\%$  до  $98 \pm 15,2\%$ .

5. Установлены существенные территориальные различия интенсивности эпидемического процесса ГА в пределах Н. Новгорода за анализируемый период. В 2007-2017 гг. во всех районах города тенденция была однонаправленной, но имела значительные отличия в темпах прироста/снижения годовых показателей и характеризовалась асинхронностью динамики. В 2014 г. инцидентность ГА в нагорной части ниже, чем заречной в 1,7 раза ( $10,26 \pm 1,7^0/0000$  и  $17,24 \pm 1,4^0/0000$  соответственно,  $p < 0,003$ ). В том же году превалентность анти-ВГА в индикаторной возрастной группе 1-9 л. в нагорной части была в 5 раз ниже по сравнению с заречной ( $2,9 \pm 2,0\%$  и  $16,2 \pm 4,3\%$  соответственно,  $p < 0,01$ ). Выявленные особенности манифестного и латентного компонентов эпидемического процесса ГА указывают на то, что в современных условиях заречная часть города по-прежнему является территорией риска по отношению к нагорной.

6. Динамическое исследование иммунитета к ВГА в Н. Новгороде выявило значительное увеличение превалентности анти-ВГА в индикаторных возрастных группах в 2013 г. по сравнению с 2012 г. Частота обнаружения антител у детей

возрастом 1-4 г. и 5-9 л. увеличилась с  $5,4\pm 3,7\%$  до  $29,2\pm 7,0\%$  и с  $6,6\pm 2,8\%$  до  $25,6\pm 4,8\%$  соответственно. Изменения иммунной прослойки в индикаторных группах являлись показателем активизации циркуляции возбудителя среди населения города и позволили сделать прогноз пятикратного роста заболеваемости ГА в 2014 г.

7. Генотипирование ВГА, выделенного в Н. Новгороде за период 2000-2017 гг. методом частичного секвенирования участка VP1-2A генома выявило исключительную циркуляцию I генотипа возбудителя. Частота выявления субтипа IA составила  $97,4\pm 3,7\%$ . Обнаруженные изоляты ВГА этого субтипа обладали высокой степенью гомологии с геновариантами, выделенными в европейской части РФ. Вирус субтипа IB выявлен в  $2,6\pm 3,7\%$ .

8. Разработаны предложения оптимизации ЭН за ГА на основе:

- повышения эффективности методики концентрирования ВГА с применением фильтрационных мембран и их комбинаций в пробах воды с большим количеством механических примесей;

- проведения динамического вирусологического контроля сточных вод на изучаемой территории на наличие РНК ВГА;

- молекулярно-генетического мониторинга за возбудителем с помощью оптимизированной методики амплификации переменного участка VP1-2A генома ВГА для последующего секвенирования и генотипирования;

- проведения динамической оценки распространенности анти-ВГА как у населения в целом, так и у различных контингентов (возрастные индикаторные группы детей 1-4 и 5-9 лет, микроучастки изучаемой территории, группы риска);

- использования комплексного подхода для оценки эпидемиологического риска ГА, включающего мониторинг проявлений манифестного и латентного компонентов эпидемического процесса, активности прямых и косвенных признаков активизации циркуляции возбудителя, превалентности и напряженности популяционного специфического иммунитета.

### **Практические рекомендации**

1. Проводить в процессе серологического мониторинга на изучаемой территории слежение за иммунной прослойкой населения по отношению к ВГА, включая ее возрастную, географическую характеристику и индикаторные возрастные группы.

2. В дополнение к серологическому мониторингу проводить слежение за наличием РНК ВГА в сточных водах до их попадания в очистные сооружения.

3. Для санитарно-вирусологического мониторинга водных объектов хозяйственного водоснабжения на наличие контаминации ВГА целесообразно применять концентрирование вируса с помощью метода фильтрующих мембран. При работе с природной водой с большим количеством механических примесей из

водоемов рекомендуется применять предфильтры из картона (КФБЖ) или полипропилена (ПП300) в сочетании с полиамидной мембраной ФМПА производства «Владисарт», г. Владимир.

4. Рекомендуется использовать оптимизированные последовательности праймеров и соответствующие условия реакции для амплификации участка VP1-2A генома ВГА для последующего секвенирования и филогенетического анализа в рамках расследования групповых заболеваний, установления эпидемиологической связи между различными случаями инфицирования.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Перспективным направлением для исследований является расширенный молекулярно-генетический мониторинг за генетическим разнообразием циркулирующих вариантов ВГА с включением в анализ протяженных участков генома возбудителя (гены VP1 и 2C) или полногеномного секвенирования, что позволит исследовать вклад изменчивости вирулентности ВГА в формирование многолетних циклов эпидемического процесса. Также планируется внедрение современных математических и информационных технологий для оценки эпидемиологического риска ГА с учетом не только данных регистрируемой заболеваемости, но и активности прямых и косвенных признаков активизации циркуляции возбудителя, а также параметров специфического иммунитета.

#### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. **Молекулярно-генетические технологии в изучении эпидемического процесса гепатита А/ Т.Н. Быстрова, К.В. Блохин, А.А. Залесских [и др.] // Медицинский альманах. – 2010. – № 2. – С. 241–245**
2. **Эволюция эпидемического процесса, стратегия и тактика вакцинопрофилактики гепатит А-инфекции на территории крупного города европейской части России/ Т.Н. Быстрова, А.В. Полянина, А.А. Залесских [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 3 (58). – С. 82–86.**
3. Быстрова, Т.Н. Этиологическое разнообразие возбудителей вирусных гепатитов, циркулирующих среди населения Нижегородской области / Т.Н. Быстрова, А.В. Полянина, А.А. Залесских [и др.] // Сборник материалов III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – М. : Б.и., 2011. – С. 64–65.
4. Быстрова, Т.Н. Совершенствование вирусологического мониторинга водных объектов в системе эпидемиологического надзора за гепатитом А / Т.Н. Быстрова, К.В. Блохин, А.А. Залесских// Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология. – 2012. – № 2 (3). – С. 25–29.
5. Быстрова, Т.Н. Совершенствование методов детекции вируса гепатита А при вирусологическом мониторинге объектов водоснабжения / Т.Н. Быстрова, К.В. Блохин, А.А. Залесских // Отечественная эпидемиология в XXI веке: приоритетные

направления развития и новые технологии в диагностике и профилактике болезней человека: сборник материалов юбилейной Всероссийской научной конференции, посвященной 75-летию кафедры общей и военной эпидемиологии и 90-летию со дня рождения академика В.Д. Белякова. – СПб. : Б.и., 2012. – С. 129–130.

6. Залесских, А.А. Дифференциация геновариантов вируса гепатита А на основе секвенирования участков генома VP1-2А / А.А. Залесских // Медиаль. – 2013. – № 1 (6). – С. 75–76.

7. Молекулярно-генетические методы исследования в эпидемиологическом надзоре и контроле за гепатитом А / Т.Н. Быстрова, Е.И. Ефимов, А.А. Залесских [и др.] // Инфекция и иммунитет. – № 2 (3). – 2013. – С. 119.

8. Генетическое разнообразие вируса гепатита А в Нижнем Новгороде / А.А. Залесских, Т.Н. Быстрова, В.П. Чуланов [и др.] // Инфекционные болезни. – 2013. – Прил. 1 (11). – С. 155.

9. Залесских, А.А. Эпидемиологические особенности гепатита А и генотипическая структура вируса в крупной городе европейской части России в современных условиях / А.А. Залесских // Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины: сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. – Ставрополь : Б.и., 2014. – С. 18–20

10. Залесских, А.А. Молекулярно-генетические и эпидемиологические особенности гепатита А в Нижнем Новгороде в современный период / А.А. Залесских // Инфекция и иммунитет. – № 1 (4). – 2014. – С. 66–67.

11. Залесских, А.А. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита А (аналитический обзор) / А.А. Залесских, Т.Н. Быстрова // Медиаль. – 2014. – № 2 (12). – С. 198–211.

12. Залесских, А.А. Генотипическая характеристика вируса гепатита А в Н. Новгороде в современных условиях / А.А. Залесских // Инфекционные болезни. – 2015. – Прил. 1 (13). – С. 129.

**13. Залесских, А.А. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика гепатита А в Н. Новгороде на этапе формирования очередного эпидемического цикла / А.А. Залесских, Т.Н. Быстрова // Медицинский альманах. – 2015.– № 5 (40). – С. 132–135.**

14. Значение водного фактора передачи в распространении гепатита А в современный период / Т.Н. Быстрова, А.А. Залесских, К.В. Блохин [и др.] // Депонированная рукопись № 84-В 2016 08.06.2016г в ВИНТИ РАН. – 26 с.

15. Залесских, А.А. Эффективность различных видов фильтрационных мембран при концентрировании вируса гепатита А в воде в рамках вирусологического

мониторинга естественных водоемов / А.А. Залесских // Современные проблемы эпидемиологии и гигиены: сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. – М. : Б.и., 2016. – С. 81–83.

16. Залесских, А.А. Совершенствование вирусологического мониторинга за вирусом гепатита А в воде естественных водоемов / А.А. Залесских // Окружающая среда и здоровье. Гигиена и экология урбанизированных территорий: сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых и специалистов, посвященной 85-летию ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России. – М. : Б.и., 2016. – С. 219–223.

17. Залесских, А.А. Эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности гепатита А в Нижнем Новгороде в современных условиях / А.А. Залесских // Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения: сборник материалов XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, посвященного 95-летию санитарно-эпидемиологической службе России. – Н. Новгород : Б.и., 2017. – С. 303.

**18. Залесских, А.А. Совершенствование системы эпидемиологического надзора за гепатитом А на основе оптимизации вирусологического и серологического мониторинга / А.А. Залесских, Т.Н. Быстрова // Медицинский альманах. – 2018. – № 4 (55). – С. 70–74.**

19. Залесских, А.А. Генетический мониторинг циркуляции вируса гепатита А в Нижнем Новгороде в 2000-2017 гг. / А.А. Залесских, Т.Н. Быстрова, А.В. Полянина // Молекулярная диагностика 2018: сборник материалов международной научно-практической конференции. – Минск : Б.и., 2018. – С. 277–278.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГА – вирус гепатита А

ВГС– вирус гепатита С

ВГЕ – вирус гепатита Е

ГА – гепатит А

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

ОВГ – острый вирусный гепатит

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция

с обратной транскрипцией

РНК – рибонуклеиновая кислота

РФ – Российская Федерация

IgM – иммуноглобулины класса М

IgG – иммуноглобулинов классы G

TTV – Transfusion Transmitted Virus