

Колясникова Надежда Михайловна

**Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым
энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися
иксодовыми клещами**

3.2.2. Эпидемиология

1.5.10. Вирусология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Федеральном государственном автономном научном учреждении «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

Научные консультанты:

Акимкин Василий Геннадьевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Ишмухаметов Айдар Айратович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Куличенко Александр Николаевич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального казенного учреждения здравоохранения Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

Рудаков Николай Викторович – доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора

Тикунова Нина Викторовна – доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « ____ » _____ 2023 года в ____ час. на заседании

диссертационного совета 64.1.010.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и на сайте www.cgie.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Николаева Светлана Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В структуре инфекционных заболеваний одно из ведущих мест занимают трансмиссивные вирусные и бактериальные природно-очаговые инфекции, переносчиками возбудителей которых являются клещи семейства Ixodidae. Среди трансмиссивных клещевых инфекций лидирующее положение по распространенности и значимости в инфекционной патологии человека, по-прежнему, принадлежит клещевому энцефалиту (КЭ или клещевой вирусный энцефалит, КВЭ) и болезни Лайма (БЛ или клещевой боррелиоз, КБ) из-за тяжести данных заболеваний и обширного нозоареала [Э.И. Коренберг с соавт., 2007; 2013]. Ежегодно в России регистрируется около 1000-2000 случаев КЭ и 4000-8000 случаев БЛ. С 2013 г. в Российской Федерации (РФ) ведется статистический учет случаев заболеваемости «новыми» трансмиссивными клещевыми инфекциями – моноцитарным эрлихиозом человека (МЭЧ) и гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ). По данным официальной статистики МЭЧ и ГАЧ вносят незначительный вклад в заболеваемость инфекциями, передающимися иксодовыми клещами. С момента учета было зарегистрировано около 150 случаев заболевания МЭЧ и около 700 случаев заболевания ГАЧ. Согласно данным Роспотребнадзора в 2021 г. эндемичными территориями по КЭ признаны 48 из 85 субъектов РФ. Высокоэндемичными территориями являются Средний и Южный Урал, Западная и Восточная Сибирь. БЛ регистрируется в 72 субъектах РФ, при этом наибольшая заболеваемость отмечается в Центральном и Приволжском регионах, на Урале, в Западной и Восточной Сибири. Наиболее эндемичными территориями с момента статистического учета для МЭЧ являются Урал, Западная и Восточная Сибирь, для ГАЧ – некоторые территории Центрального (ЦФО), Северо-Западного (СЗФО), Приволжского (ПФО), Уральского (УФО) и Сибирского (СФО) федеральных округов. Основными переносчиками возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ являются клещи рода *Ixodes* видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*, в ряде сибирских регионов – *Ixodes pavlovskyi*.

Генетическое разнообразие возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами, особенно КЭ и БЛ, обуславливает клинические и эпидемиологические особенности, вызываемых ими заболеваний. В настоящее время установлено существование трех наиболее распространенных подтипов вируса КЭ – дальневосточного, сибирского и европейского, различающихся генетическими и антигенными свойствами [Р.В. Адельшин с соавт., 2006; В.В. Погодина, 2004; 2005]. Описаны новые отдельные монофилетические группы штаммов вируса КЭ [В.И. Злобин с соавт., 2001; 2003; 2021; С.Е. Ткачев с соавт., 2012]. На большей части территории России доминирует сибирский подтип вируса КЭ, однако причины его широкого распространения до сих пор не ясны, а патогенный потенциал мало изучен.

Генетическое разнообразие возбудителей БЛ определяет полиморфную клиническую картину и прогноз вызываемых ими заболеваний [Е.С. Кощевец с соавт., 2000; Э.И. Коренберг, 2010]. В клинической структуре БЛ выделяют эритемную и безэритемную формы болезни. В настоящее время известно, что БЛ вызывается основными четырьмя патогенными для человека геновидами боррелий, входящими в группу *Borrelia burgdorferi sensu lato*: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* и *B. burgdorferi*

sensu stricto. Клиническая картина эритемной формы БЛ определяется основным патогномоничным симптомом – наличием мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща и только по данному клиническому признаку, учитывая эпидемиологический анамнез, врач может диагностировать заболевание и безотлагательно, не дожидаясь результатов специфического лабораторного исследования назначить антибактериальное лечение. Особую диагностическую сложность представляет безэритемная форма БЛ. В остром периоде заболевания серологические методы диагностики недостаточно информативны, что обусловлено слабой иммуногенностью боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., или тем, что заболевание может быть вызвано другими видами боррелий, в частности, *Borrelia miyamotoi* – возбудителем нового для РФ клещевого боррелиоза. ДНК данного возбудителя была впервые обнаружена в 2003 г. в городе Ижевск в крови 25 больных с диагнозом «Иксодовый клещевой боррелиоз, безэритемная форма» [Л.С. Карань с соавт., 2004], однако патогенность для человека *B. miyamotoi* в мире до начала наших исследований не была известна. В условиях сочетанных природных очагов с другими клещевыми инфекциями, в частности, с КЭ клиническая диагностика боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* (БМ), затруднена, а выявление антител методом иммуноферментного анализа (ИФА) недостаточно специфично вследствие перекрестного реагирования с антигенами боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., либо невозможно вследствие отсутствия специфичных серологических тест-систем. Детальное изучение эпидемиологических и клинических проявлений БМ на всех эндемичных территориях необходимо для сопоставления результатов и формирования целостного представления о боррелиозе, вызываемом данным возбудителем. Своевременный выбор адекватной терапии в современных условиях должен основываться на комплексе лабораторных методов и методик, позволяющих обеспечить дифференциальную экспресс-диагностику при поступлении больного в стационар. Комплекс методик может и должен применяться для эпидемиологической характеристики территорий, степени инфицированности иксодовых клещей и спектра присутствующих в них патогенов с целью принятия необходимых профилактических мер.

Нередко на одних и тех же территориях одновременно существует несколько паразитарных систем с различными возбудителями, что определяет высокую степень существования сочетанных природных очагов КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ, а, следовательно, высокую частоту возникновения, так называемых, микст-форм заболеваний. Возможно развитие микст-инфекций при заражении как боррелиями, анаплазмами и эрлихиями в ассоциации с вирусом КЭ, так и в любых других сочетаниях, в том числе при заражении несколькими генотипами или геновидами одного возбудителя, например, различными геновидами боррелий. В связи с этим изучение эпидемиологических и клинических проявлений как моно-, так и микст-инфекций, разработка алгоритмов ранней дифференциальной диагностики заболеваний является актуальной задачей для современного здравоохранения и совершенствования эпидемиологического надзора.

Степень разработанности темы диссертационного исследования

Основанием для проведения диссертационного исследования послужила высокая актуальность проблемы трансмиссивных клещевых инфекций – КЭ, БЛ

(эритемная и безэритемная формы), МЭЧ и ГАЧ как в России, так и за рубежом. В ряде эндемичных регионов России изучены некоторые аспекты эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики вышеперечисленных заболеваний [К.А. Аитов, 2005; В.А. Борисов, 2002; Н.Н. Воробьева, 1996; 1998; Т.А. Дружинина, 2005; Т.А. Дружинина, Н.Ю. Ширина, 2020; С.С. Козлов, 1999; А.Б. Конькова-Рейдман, 2012; О.М. Лесняк, 1995; А.С. Оберт с соавт., 2001; А.Н. Усков, 2003; Т.Н. Федчук, 2008]. Показано доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на большей части территории РФ [М.М. Верховина, 2014; С.Е. Ткачев с соавт., 2012; С.Г. Герасимов, 2012; Н.М. Колясникова, 2008; В.В. Погодина с соавт., 2007], однако мало изучена его связь с клиническими формами и исходами заболевания. В нормативных документах совершенно не представлена информация о специфической лабораторной диагностике КЭ и постановке диагноза у привитых, в то время как программа вакцинопрофилактики КЭ в большей или меньшей степени внедрена на эндемичных территориях. Показано, что эффективность вакцинопрофилактики КЭ проявляется в изменении структуры клинических форм в сторону более легкого течения с увеличением преимущественно лихорадочных форм и снижением доли менингеальных и очаговых форм болезни [С.В. Лучинина с соавт., 2016; Л.И. Волкова, 2009]. В связи с этим требуют уточнения стандарты специфической лабораторной диагностики заболевания, а также выяснение причин заболеваемости и летальных исходов среди вакцинированных лиц.

Дифференциальная диагностика лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей затруднена, так как в основном ограничивается тестированием сыворотки крови на наличие антител к возбудителям КЭ и БЛ. При этом могут встречаться серонегативные формы данных заболеваний [И.А. Галюков, 2010; А.Б. Конькова-Рейдман, 2012; В.Ю. Тетерин, 2012], а возбудителями быть другие этиологические агенты, в частности, *B. miyamotoi* – новый патоген безэритемных форм боррелиоза, а также возбудители других нозологических форм, например, МЭЧ и ГАЧ. В зарубежной и отечественной литературе широко представлена информация в отношении эпидемиологических и клинических особенностей эритемной формы БЛ. Этиология безэритемной формы заболевания и роль *B. miyamotoi* в структуре этих форм изучены недостаточно. В настоящее время безэритемная форма боррелиоза, а также заболевания МЭЧ и ГАЧ могут протекать под диагнозами «Клещевой энцефалит, лихорадочная форма», «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими» (ВЛПЧ), «Острая респираторная вирусная инфекция» и другие, при этом терапия вирусных и бактериальных инфекций принципиально различна. К моменту наших исследований (2009 г.) в мире не было известно о клинико-лабораторных подтвержденных случаях БМ. На сегодняшний день в отечественной и зарубежной литературе появляется все больше и больше информации по этому вопросу. Необходима высокая степень настороженности врачей-клиницистов в отношении боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, а усилия по культивированию возбудителя и изучению патогенеза этой инфекции должны быть приоритетными. Трансмиссивные клещевые инфекции, особенно КЭ и БЛ, в т.ч. БМ наносят большой урон экономике РФ вследствие отсутствия в ряде случаев четких алгоритмов и методов ранней диагностики этих заболеваний, а наносимый ими социально-экономический ущерб до сих пор не изучен. В свою очередь оценка социально-экономического бремени болезней позволяет сформировать основу для принятия управленческих решений и организационных мероприятий, направленных на его снижение.

Все вышеизложенное определило цель и задачи данного диссертационного исследования.

Цель диссертационного исследования

Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, в условиях сочетанности природных очагов, на основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики.

Задачи диссертационного исследования

1. Провести анализ проявлений эпидемического процесса КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ на территории РФ и отдельно – Свердловской области.
2. Оценить социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ.
3. Разработать, оптимизировать и апробировать ПЦР-методики в режиме реального времени для выявления вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
4. Провести молекулярно-биологический мониторинг распространения вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
5. Выявить эпидемиологические, клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в условиях сочетанности природных очагов.
6. Оценить возможности специфической лабораторной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
7. Изучить этиологическую роль и патогенный потенциал доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ.
8. Научно обосновать пути совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, включающие молекулярно-биологический мониторинг и алгоритм дифференциальной диагностики.

Научная новизна исследования

В ходе проведенного исследования таких проявлений эпидемического процесса как обращаемость населения по поводу присасывания клещей, территориальное распределение, динамика уровня и структуры заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ и по субъектам на современном этапе определены вероятные причины снижения заболеваемости данными инфекциями в период пандемии COVID-19.

Впервые в РФ проведена оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ, определен ущерб в денежном эквиваленте и число потерянных лет трудоспособной жизни (DALY) за один календарный год.

Впервые разработаны, оптимизированы, апробированы и зарегистрированы ПЦР-методики в режиме реального времени для одновременного выявления 4 клещевых патогенов (вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *Anaplasma*

phagocytophilum, *Ehrlichia chaffeensis*/*Ehrlichia muris*), а также *B. miyamotoi* в клещах и клиническом материале; проведено расширенное изучение распространения данных патогенов на территории РФ.

Впервые проведена комплексная дифференциальная диагностика КЭ и схожих с ним по эпидемиологическим и клинико-лабораторным данным бактериальных клещевых инфекций, изучена этиология безэритемных форм боррелиоза на эндемичной территории (Свердловская область), определены молекулярно-генетические характеристики возбудителей. Впервые на территории Свердловской области показано существование сочетанных очагов КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ и ГАЧ.

Разработан и оптимизирован протокол, позволивший впервые в мире выделить из крови пациентов и закрепить в культуре *in vitro* изоляты (штаммы) нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi*.

Определены возможности молекулярно-биологических и серологических методов специфической лабораторной диагностики БМ.

Впервые при остром и хроническом КЭ у вакцинированных пациентов выявлены три варианта динамики гуморального иммунитета (по IgG): сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика антител, а также определены критерии специфической лабораторной диагностики КЭ у привитых.

Определена этиологическая роль и патогенный потенциал доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ. Впервые описана морфологическая картина поражений в центральной нервной системе, вызванных данным подтипом возбудителя, а также изучены нейровирулентные и нейроинвазивные свойства современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа.

Научно обоснован и усовершенствован алгоритм дифференциальной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, применяемый для оптимизации системы профилактических мероприятий после присасывания клеща и оказания медицинской помощи населению с клещевыми инфекциями в РФ.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Проведенная оценка современной эпидемиологической ситуации по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, включая период пандемии COVID-19, позволила выявить признаки эпидемиологического неблагополучия и необходимость совершенствования диагностики и мер профилактики данных инфекций.

2. Рассчитанный социально-экономический ущерб от КЭ и БЛ обусловлен как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи в регионах РФ, поэтому величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должна определяться дифференцировано, а применение предлагаемой медико-экономической методологии должно предоставить фактическую основу для принятия управленческих решений.

3. Разработанный и внедренный в практику работы учреждений различных ведомств диагностический комплекс ПЦР-методик в режиме реального времени позволяет усилить микробиологический мониторинг (включая вирусологический и бактериологический) в системе эпидемиологического надзора и существенно повысить эффективность специфической лабораторной диагностики трансмиссивных клещевых инфекций, что, в свою очередь, способствует своевременному выбору правильной

тактики ведения и лечения больных, а также своевременному проведению противоэпидемических мероприятий в природных очагах инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

4. Представленные эпидемиологические, клинико-лабораторные и молекулярно-генетические характеристики КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ, ГАЧ позволяют установить этиологию этих инфекций.

5. Впервые в мире разработана технология культивирования нового возбудителя боррелиоза – *B. miyamotoi*, получены и закреплены российские клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*. Выделенные штаммы *B. miyamotoi* депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (В-8814, В-8810, В-8813, В-8811, В-8812, В-8809).

6. Нуклеотидные последовательности полноразмерного гена белка E изолятов РНК и штаммов вируса КЭ (49 последовательностей), 5S-23S 16S рРНК и флагеллина *Borrelia* spp., включая *B. miyamotoi* (22 последовательности), полногеномные сиквенсы хромосом и плазмид штаммов *B. miyamotoi* (более 20 последовательностей), выделенные от больных и клещей, депонированы в международный компьютерный банк данных GenBank.

7. На основе молекулярно-биологического мониторинга, включающего лабораторное подтверждение каждого случая заболевания КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, а также научно обоснованного внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора.

Методология и методы исследования

Исследование носило многолетний и комплексный характер. В работе использованы общенаучные подходы, специальные методы научного познания классической эпидемиологии (описательные и аналитические методы), классические вирусологические методы, а также микробиологические, иммунологические (серологические), иммуногистохимические, молекулярно-биологические, статистические и математические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Современная эпидемиологическая ситуация по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ характеризуется сохранением эпидемиологического неблагополучия, несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости данными инфекциями.

2. Расчетное социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ, обусловленное заболеваемостью за один календарный год, составляет более 2 млрд рублей и приводит к потере более 20,5 тыс. лет трудоспособной жизни, при этом различия социально-экономического бремени между регионами обусловлены как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи.

3. Внедрение в практику разработанных и оптимизированных методик на основе ПЦР в режиме реального времени способствует совершенствованию эпидемиологического мониторинга природных очагов и повышает чувствительность

специфической лабораторной диагностики заболеваний, экологически связанных с иксодовыми клещами.

4. Возбудители КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ широко распространены на территории РФ и за ее пределами; выявлена высокая частота микст-инфицирования клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*.

5. Дифференциальную диагностику лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей в пределах ареала *I. persulcatus* и *I. ricinus* на эндемичных территориях (в частности, на территории Свердловской области) следует проводить между КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), БМ, МЭЧ и ГАЧ; этиологическим агентом КЭ на территории Свердловской области является сибирский подтип вируса, БЛ – *V. garinii*, БМ – азиатский геновариант *V. tyiamotoi*.

6. Специфическая лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами, должна основываться на комплексном применении современных молекулярно-биологических и серологических методов исследования.

7. Сибирский подтип вируса КЭ, доминирующий на территории РФ, вызывает весь спектр клинических форм заболевания – от инаппарантной до очаговых форм с летальным исходом, а современные изоляты (штаммы) вируса данного подтипа являются высоконейроинвазивными и нейровирулентными для лабораторных животных.

8. На основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма дифференциальной диагностики усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

Личное участие автора в получении результатов

Автором осуществлено планирование этапов исследования, проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы, а также лично или при его участии выполнены эпидемиологические, вирусологические, микробиологические, молекулярно-биологические, иммунологические исследования, статистический анализ. Проведена оптимизация условий и апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени для проведения молекулярно-биологического мониторинга иксодовых клещей и диагностики трансмиссивных клещевых инфекций. Автором лично проведены систематизация, анализ и обобщение полученных результатов проведенных исследований. Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: постановка задач, экспериментальная работа, включая экспедиции в эндемичные очаги по клещевым инфекциям, обсуждение результатов, публикации, в том числе в международных базах данных, внедрение результатов работы в практическое здравоохранение.

Внедрение результатов исследования

В ходе проведенных исследований разработаны и зарегистрированы на территории РФ наборы реагентов на основе ПЦР в режиме реального времени для диагностики возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ – «АмплиСенс® *TBEV*, *V. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение №

ФСР 2010/09026 от 22.02.2019 г.), и боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* – «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019 г.). Данные наборы реагентов широко внедрены в практику работы учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, научно-исследовательских институтов.

Материалы работы использованы при составлении Санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3310-15 «Профилактика инфекций, передающихся иксодовыми клещами», Санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Результаты исследований внедрены в практику работы ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбург (Городской центр природно-очаговых инфекций), на базе которой проходила, в том числе, апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени.

Апробированные при проведении исследований методические подходы внедрены в научную и педагогическую работу в аспирантуре по специальности «Вирусология» в ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), используются в лекционном материале сертификационных курсов усовершенствования специалистов различного профиля «ПЦР-диагностика инфекционных заболеваний», проводимых на базе ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, а также при чтении лекций врачам-эпидемиологам, инфекционистам, педиатрам, неврологам и другим специалистам, занимающимся проблемой природно-очаговых инфекций.

Материалы диссертации использованы при разработке:

1. Учебного пособия «Клещевой энцефалит» / Н. М. Колясникова, Н. А. Алешо, Н. Г. Политова. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 2022. – 138 с.
2. Монографии «Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время)» / под ред. В. В. Погодиной, А. А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – 344 с. (Главы 1.1, 2.1, 4.6, 4.7, 4.9, 5.1, 5.3, 5.4, 5.5).
3. Монографии «Клещевой энцефалит в XXI веке» / под ред. В. И. Злобина. – М.: Наука, 2021. – 471 с. (Глава 7).
4. Монографии «Патология нейроинфекций, вызываемых вирусами комплекса клещевого энцефалита» (монография-атлас) / под ред. А. А. Ишмухаметова. – М.: Синтерия, 2018. – 360 с. (Глава 4.1).
5. Главы в зарубежной книге «Annual reports in Medicinal Chemistry»: Kolyasnikova, N. M. Insights from experience in the treatment of tick-borne bacterial coinfections with tick-borne encephalitis (Chapter 4) / N. M. Kolyasnikova, J. P. Sanchez-Pimentel, N. B. Pestov // Medicinal chemistry of tick-borne encephalitis (Editor Dmitry I. Osolodkin). – 2022. – P. 157-242.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется репрезентативным объемом проанализированных данных и их адекватным статистическим анализом. Материалы диссертационного исследования были доложены, обсуждены и рекомендованы к защите на заседании Апробационного Совета ФБУН «Центральный

научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора 27 декабря 2022 г. и на заседании Научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) 13 января 2023 г.

Результаты проведенных исследований представлены на следующих научно-практических мероприятиях: XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов научно-исследовательских учреждений Роспотребнадзора. Биологическая безопасность в современном мире (Оболensk, 2009); 12th SAC Seminar. Combating Global Infections (Иркутск, 2009); Научно-практическая конференция, посвященная столетию со дня рождения основателя Института полиомиелита и вирусных энцефалитов Михаила Петровича Чумакова. Актуальные проблемы вирусологии (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых. Диагностика, профилактика и лечение инфекционных болезней (Москва, 2009); Научно-практический семинар Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, 2010); II Национальная конференция с международным участием. Нейроинфекции. Современные аспекты клещевых инфекций (Екатеринбург, 2010); II Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2010); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН (Москва, 2010); Научно-практическая конференция. Молекулярная диагностика инфекционных болезней (Москва, 2010); Научно-практическая конференция, проведенная по приказу «О проведении областного совещания инфекционистов» в соответствии с планом организационных мероприятий департамента здравоохранения администрации Тюменской области на 2010 г. (Тюмень, 2010); XV Научно-практическая конференция врачей-интернов медико-профилактического факультета послевузовского профессионального образования ММА им. И. М. Сеченова (Москва, 2010); VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика – 2010 (Москва, 2010); III Ежегодный всероссийский конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2011); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН (Москва, 2011); Научно-практический семинар, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, 2011); IV Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2012); Конференция молодых ученых ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН (Москва, 2013); Российская научная конференция с международным участием. Актуальные проблемы клещевого энцефалита (Москва, 2013); Конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 50-летию ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. Новые научные достижения молодых ученых в эпидемиологии, клинике, диагностике, лечении и профилактике инфекционных болезней (Москва, 2013); Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 170-летию И. И. Мечникова (Москва, 2015); Научно-практический семинар, Детский медицинский центр Управления Делами Президента (Москва, 2015); 115th General meeting of the American Society for Microbiology (New Orleans, Louisiana, 2015); 49th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America (Boston, 2011); VIII Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2016); IX Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2017); XXII

Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Теория и практика клинической лабораторной диагностики (Москва, 2017); IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика – 2017 (Москва, 2017); International symposium on tick-borne pathogens and disease ITPD 2017 (Vienna, Austria, 2017); Международная научно-практическая конференция. Молекулярная диагностика – 2018 (Минск, 2018); Третья Байкальская международная научная конференция по природно-очаговым трансмиссивным инфекциям, посвященная 100-летию образования Иркутского государственного медицинского университета (Иркутск, 2018); Научно-практическая конференция. Актуальные вопросы диагностики и клиники социально-значимых заболеваний (Иркутск, 2018); XI Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием. Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы (Москва, 2019); International symposium on tick-borne pathogens and disease ITPD 2019 (Vienna, Austria, 2019); 29th European congress of Clinical microbiology and Infectious diseases 2019 (Amsterdam, 2019); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020 (Москва, 2020); XII Ежегодный Всероссийский интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием. Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика (Москва, 2020); VI Российский конгресс лабораторной медицины (Москва, 2020); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы, посвященной 100-летию со дня рождения академика И.Н. Блохиной (Москва, 2021); XIII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены (Екатеринбург, 2021); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты (Москва, 2021).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспортам специальностей 3.2.2. Эпидемиология и 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 2, 4, 5 паспорта специальности эпидемиология и пунктам 6, 7, 8, 10 паспорта специальности вирусология.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 77 печатных работ, в том числе научных статей отражающих основные результаты диссертации – 25 статей, из них: в изданиях из перечня ВАК при Минобрнауке РФ – 18 статей, в журналах, включенных в международные базы (Web of Science, Scopus, PubMed) – 7 статей; 12 глав в четырех монографиях (3 – в отечественных и 1 – в зарубежной) и 1 учебное пособие.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 560 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 9 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 108 таблицами и 156 рисунками. Список цитируемой литературы включает 325 отечественных и 663 зарубежных источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование носило многолетний и комплексный характер. Для решения поставленных задач использовали комплекс эпидемиологических, вирусологических, микробиологических, серологических, иммуногистохимических, молекулярно-биологических, статистических, математических методов исследования, а также метод экспертных оценок, представленных в таблице 1.

Материалы исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Обработку и анализ данных выполняли с использованием прикладных программ Microsoft Office в операционной среде Windows 13 (электронные таблицы Excel), а также с помощью лицензионной программы IBM SPSS Statistics 19. Статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами вариационной статистики (вычисление доли, средних величин исследуемых показателей (M), стандартное отклонение (σ или S), средней ошибки (m), доверительного интервала). Значимость различий (p) для качественных показателей определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. В тех случаях, когда в таблице 2×2 , хотя бы одна из сравниваемых частот была менее 10, использовали точный критерий Фишера или U-критерий Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан нескольких выборок были использованы тесты Крускал-Уоллеса или ANOVA. Полученное значение $p > 0,05$ свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий, а значение $p < 0,05$ – об их наличии.

В опытах титрования вируса КЭ на мышах и в культуре клеток по цитопатическому действию титры вируса определяли по методу полных кумулятивов Рида и Менча [Reed L.J., Muench H.A., 1938].

Таблица 1 – Материалы и методы исследования

Этапы (задачи)	Направление исследования	Характеристика материалов	Годы	Количество (формы и наблюдения)	Методы исследований
1	Мониторинг обращаемости населения по поводу присасывания клещей; изучение динамики, территориального распределения и структуры заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ на территории РФ в целом и по субъектам; сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на территории Свердловской области	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые); экстренные извещения – форма №058/у (Свердловская область)	2005-2021 (2013-2021)	95 форм 4 585 770 наблюдений	Эпидемиологический (ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование); статистические (Microsoft Excel, SPSS)
2	Оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ в РФ	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2006-2012	14 форм	Эпидемиологический (ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование, открытые интернет-источники); статистические (Microsoft Excel, SPSS); математические; метод экспертных оценок

Продолжение таблицы 1

3	<p>Разработка, оптимизация условий и апробация ПЦР-методик в режиме реального времени для одновременного выявления основных четырех патогенов (<i>Tick-borne encephalitis virus</i>, <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>, <i>Anaplasma phagocytophilum</i>, <i>Ehrlichia chaffeensis/Ehrlichia muris</i>) и <i>Borrelia miyamotoi</i></p>	<p>Стандартные образцы предприятия для проверки аналитической чувствительности, штаммы различных микроорганизмов, а также образцы геномной ДНК человека для проверки аналитической специфичности; клинический материал (кровь, СМЖ, аутопсийный материал) от больных клещевыми инфекциями из Свердловской области; иксодовые клещи <i>I. persulcatus</i> и <i>I. ricinus</i>, собранные на территории Московской области</p>	2008-2013	<p>Более 100 экспериментов, 638 наблюдений</p>	<p>Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА); статистические (Microsoft Excel, SPSS)</p>
4	<p>Проведение молекулярно-биологического мониторинга распространения вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в различных регионах РФ (12 регионов, 6 федеральных округов) и Республики Казахстан (3 области)</p>	<p>Иксодовые клещи <i>I. persulcatus</i> и <i>I. ricinus</i></p>	2004-2013	<p>7768 клещей, из них 7030 – клещи из природы, 738 – клещи, снятые с людей (из Свердловской области)</p>	<p>Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); статистические (Microsoft Excel, SPSS)</p>

Продолжение таблицы 1

5	<p>Изучение эпидемиологических, клинико-лабораторных, молекулярно-генетических характеристик КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, ВЛПЧ и другие вирусные (вирусы Кемерово, Алонгшан, Хасеки) и бактериальные (риккетсии группы пятнистых лихорадок, <i>Coxiella burnetii</i>) агенты на территории Свердловской области; выделение клинических изолятов (штаммов) <i>Borrelia miyamotoi</i> и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам <i>in vitro</i></p>	<p>Клинический материал (плазма, сыворотка крови, СМЖ) от больных с КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, ВЛПЧ и другие вирусные и бактериальные агенты; истории болезней (форма №003/у); изоляты (штаммы) <i>Borrelia miyamotoi</i></p>	<p>2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021</p>	<p>1076 пациентов, 24 изолята (штамма) <i>Borrelia miyamotoi</i></p>	<p>Эпидемиологический (проспективное и ретроспективное эпидемиологическое исследование); клинические; лабораторные (ОАК, ОАМ, биохимические, исследование СМЖ); молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА, планарный белковый биочип введен в исследование с 2015 г.); микроскопический (2011 г.); бактериологические (культуральный, определение МИК); статистические (Microsoft Excel, SPSS)</p>
---	---	--	---	--	--

Продолжение таблицы 1

6	Проведение специфической лабораторной диагностики КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ, ГАЧ; изучение динамики гуморального иммунитета у вакцинированных против КЭ пациентов	Клинический материал (плазма, сыворотка крови, СМЖ); истории болезней (форма №003/у)	2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021; 2013-2017	1076 пациентов; 53 пациента, 3 штамма вируса КЭ (Айна/1448 – сибирский подтип; Курган 269 – сибирский подтип; Софьин – дальневосточный подтип)	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА, планарный белковый биочип включен в исследование с 2015 г., РТГА, реакция нейтрализации). ИФА для выявления IgM и IgG МЭЧ и ГАЧ введен только в 2021 г.
7	Изучение этиологической роли сибирского подтипа вируса КЭ при развитии летальных случаев заболевания из 6 различных регионов РФ, в том числе у вакцинированных больных с учетом оценки морфологических изменений в ЦНС при КЭ; изучение механизмов развития патологического процесса и нейровирулентных и нейроинвазивных свойств штаммов вируса КЭ, выделенных при летальных исходах и от пациентов с различными клиническими формами заболевания	Аутопсийный материал головного и спинного мозга; клинический материал от больных КЭ (плазма и сыворотка крови); истории болезней (форма №003/у); культура клеток СПЭВ и Vero, нелинейные белые мыши, сирийские хомяки	2008-2021	21 пациент, 11 штаммов вируса КЭ	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА, РТГА, реакция нейтрализации); иммуногистохимический; описательный; вирусологические (выделение штаммов вируса в культуре клеток и на лабораторных животных)
8	Разработка алгоритма дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами	Результаты, полученные на 3-7 этапах исследования	2008-2022	-	Описательный

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ проявлений эпидемического процесса клещевого энцефалита, болезни Лайма, моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека на территории Российской Федерации

В ходе мониторинга обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей за 9-летний период официальной регистрации (2013-2021 гг.) установлена общая тенденция к стабилизации эпидемиологической ситуации по данному показателю, однако в период эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции COVID-19 в 2020-2021 гг. по сравнению с 2019 г. было выявлено снижение обращаемости населения по поводу присасывания клещей в 1,2 раза. Тенденция к снижению данного показателя в 2020-2021 гг. прослеживалась практически во всех федеральных округах РФ, за исключением СФО и УФО (на которые пришлось 46% всех обращений за период изучения). Причинами этого могли быть как часто повторяющиеся локдауны в эпидемический период активности клещей, что способствовало снижению контакта населения с иксодовыми клещами, так и общебиологические факторы (снижение численности переносчиков в этот период). За изученный 9-летний период наиболее неблагополучными явились 3 ФО с 12 субъектами РФ: УФО (Тюменская, Свердловская области); СФО (Томская, Кемеровская, Новосибирская области, Республика Алтай); СЗФО (Вологодская, Псковская, Новгородская, Калининградская, Архангельская области и Республика Карелия) (рисунок 1). Было установлено, что три четверти пострадавших приходятся на городское (75,6%) взрослое (75,0%) население.

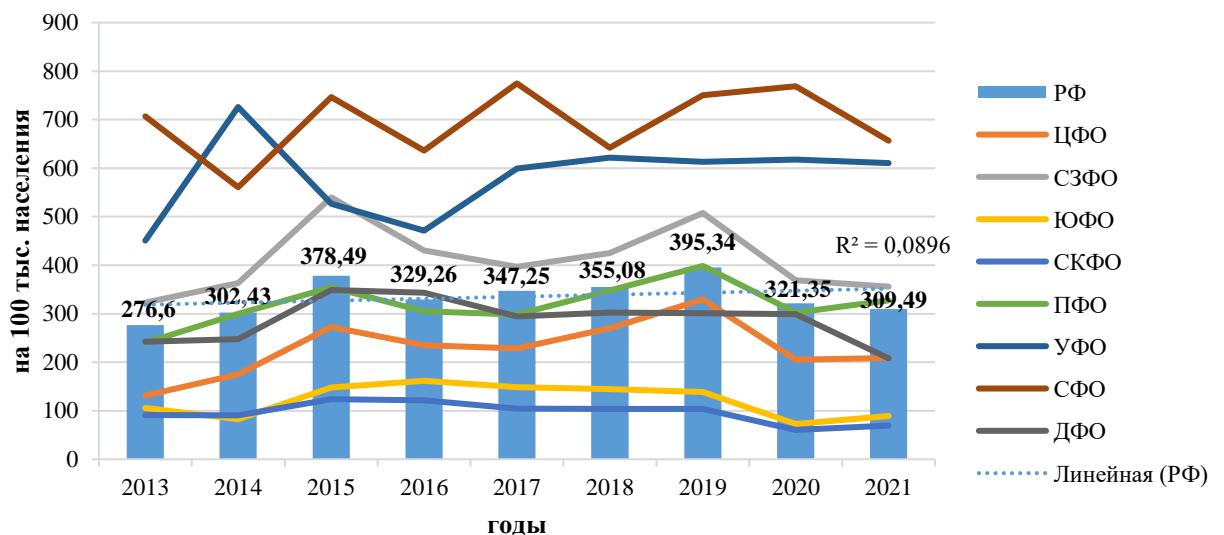


Рисунок 1 – Динамика обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по ФО РФ в период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Среди инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, за которыми ведется статистический учет, эпидемиологической значимостью в нашей стране характеризуются КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ. Анализ многолетней динамики заболеваемости

населения КЭ в РФ выявил дальнейшее снижение заболеваемости с 3,16 (2005 г.) до 0,66 и 0,69 на 100 тыс. населения (2020 г. и 2021 г. соответственно). В 2020 г. и 2021 г. было зарегистрировано всего 967 и 1010 случаев заболевания КЭ, что в 1,8 раза меньше абсолютного числа случаев, выявленных в 2019 г. (1775 случаев) (рисунок 2). В 2020 г. показатель заболеваемости КЭ был одним из самых низких за всю историю изучения, при этом показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг., как было отмечено выше, в РФ снизился только в 1,2 раза. Вероятно, выраженное снижение регистрируемой заболеваемости КЭ в РФ в 2020-2021 гг. было обусловлено не столько снижением контактов населения с природными очагами в период самоизоляции (весенне-летний период – период активности клещей), сколько резким перераспределением объемов оказания медицинской помощи в пользу больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, снижением объемов лабораторной диагностики по выявлению возбудителя и соответственно регистрации случаев заболевания.

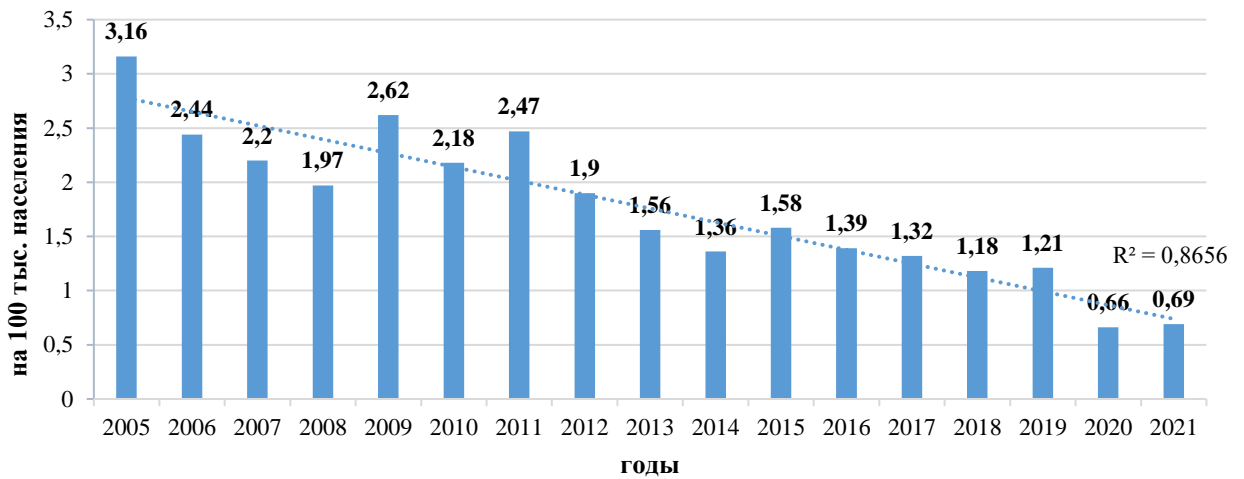


Рисунок 2 – Динамика заболеваемости КЭ в РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Подобная тенденция была выявлена при многолетнем анализе показателя заболеваемости БЛ, который снизился в 2 раза в 2020-2021 гг. по сравнению с 2019 г. (рисунок 3). Однако, следует отметить, что если снижение заболеваемости БЛ может быть обусловлено только неспецифическими факторами (часто повторяющимися локдаунами в период пандемии COVID-19, информационно-просветительской работой с населением, своевременной антибиотикопрофилактикой по результатам исследования клеща методом ПЦР на наличие боррелий), то общая тенденция к снижению заболеваемости КЭ за изученный период обусловлена рядом факторов – специфических и неспецифических. К специфическим следует отнести внедрение с начала 2000-х гг. программы массовой вакцинопрофилактики на эндемичных территориях по КЭ, к неспецифическим – своевременную обращаемость населения по поводу присасывания клещей в медицинские организации, где помимо удаления клеща по показаниям может быть введен иммуноглобулин человека против КЭ, проведение исследования клещей в диагностических лабораториях более высокоспецифичным методом ПЦР в режиме реального времени на наличие вирусной РНК по сравнению с

методом ИФА на определение антигена вируса, информационно-просветительская работа с населением, а также период самоизоляции в весенне-летний период пандемии COVID-19.

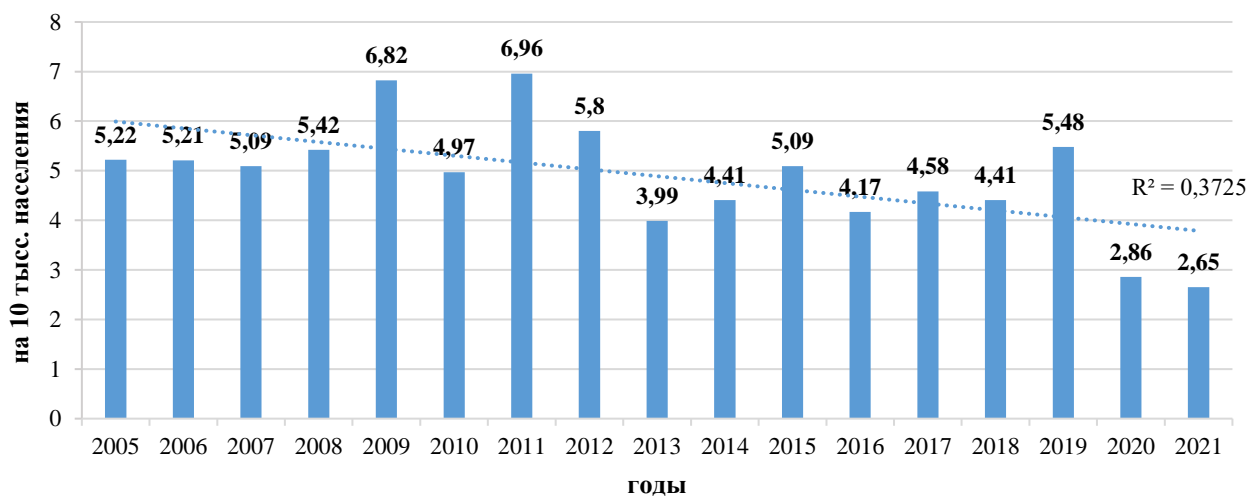


Рисунок 3 – Динамика заболеваемости БЛ в РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

За изученный период территориальное распределение заболеваемости КЭ и БЛ характеризовалось неравномерностью, однако были выявлены те же ФО с наиболее высокими показателями заболеваемости обеими инфекциями, что и при обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей – это СФО, УФО и СЗФО, субъекты внутри этих округов могли различаться. Так, при КЭ высокоэндемичными субъектами оказались: СФО – Красноярский край, Республики Алтай, Хакасия, Тыва; УФО – Курганская и Свердловская области; СЗФО – Архангельская, Вологодская области, Республика Карелия. При БЛ: СФО – Томская область, Республики Алтай, Тыва, Красноярский край, Республика Хакасия, Новосибирская, Кемеровская, Иркутская области; УФО – Свердловская, Курганская, Тюменская области; СЗФО – Вологодская, Калининградская, Псковская, Новгородская области, Республика Карелия, г. Санкт-Петербург, Архангельская, Ленинградская области. Среди всех субъектов РФ самая высокая среднемноголетняя заболеваемость БЛ была выявлена в Вологодской области, среднемноголетний показатель превысил среднероссийский в 4,6 раза, в Томской области – в 3,7 раза, Свердловской области – в 3 раза, и Республике Тыва – почти в 3 раза. В целом следует отметить, что на территории РФ в возрастной структуре заболевших КЭ и БЛ за 17-летний период преобладали взрослые (86,0% и 90,1% соответственно) городские (66,1% и 81,3% соответственно) жители, а летальные исходы регистрировались преимущественно среди непривитого против КЭ взрослого населения. Наибольший показатель летальности за все годы изучения был отмечен в Дальневосточном ФО (ДФО) с некоторой тенденцией к снижению в 2018-2020 гг. При БЛ летальные исходы встречаются крайне редко, однако за наблюдаемый период было выявлено 3 случая летального исхода среди взрослых с БЛ из г. Москва и Забайкальского края.

Многолетний анализ заболеваемости новыми для нашей страны инфекциями – МЭЧ и ГАЧ за 9-летний период официальной регистрации (2013-2021 гг.) выявил

выраженную тенденцию к снижению заболеваемости как среди взрослого, так и среди детского населения (рисунки 4 и 5).

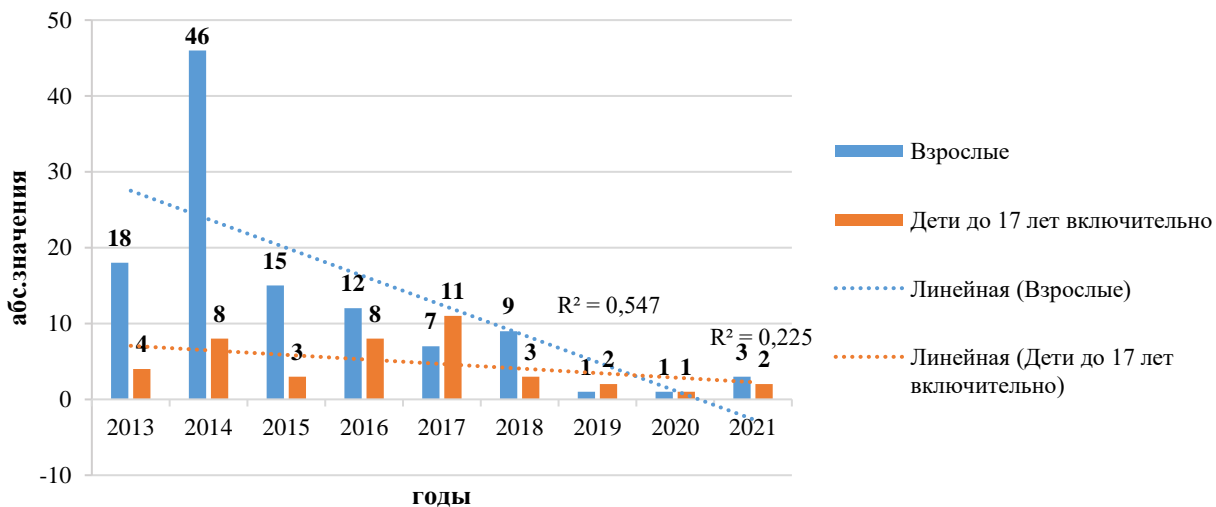


Рисунок 4 – Динамика числа случаев МЭЧ в РФ за период 2013-2021 гг. среди взрослых и детей

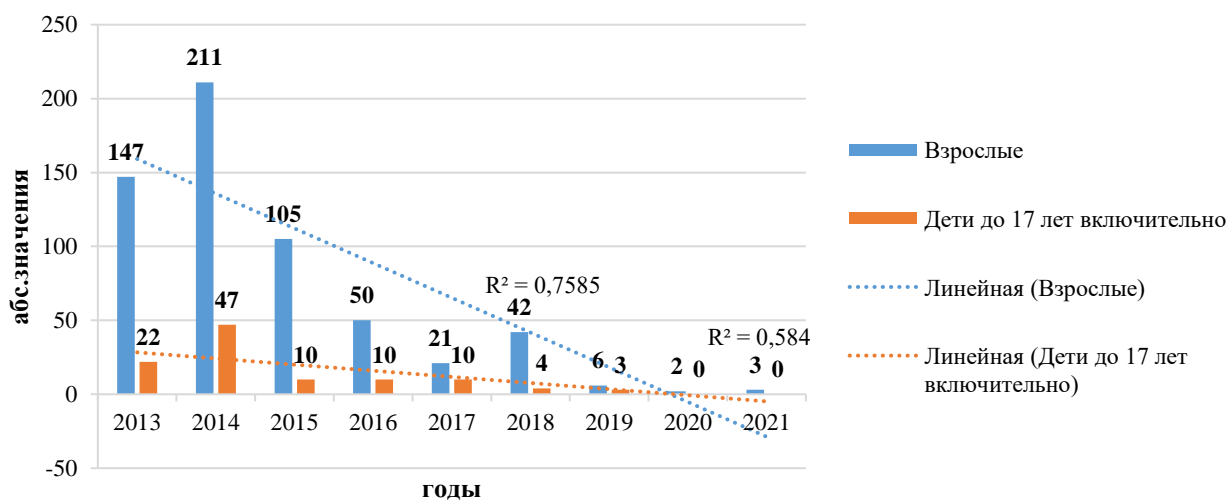


Рисунок 5 – Динамика числа случаев ГАЧ в РФ за период 2013-2021 гг. среди взрослых и детей

Максимальное число случаев как МЭЧ, так и ГАЧ было выявлено в 2014 г. и составило 54 и 258 случаев соответственно. Наиболее неблагополучными ФО РФ по МЭЧ и ГАЧ явились те же округа и ряд субъектов, которые были выделены для КЭ и БЛ, однако для МЭЧ среди эндемичных добавился Приморский край (ДФО), а для ГАЧ – Пермский край и Кировская область (ПФО). На наш взгляд, выраженное снижение регистрируемой заболеваемости МЭЧ и ГАЧ в РФ в последние годы связано с ухудшением качества диагностики данных нозологий, а не снижением активности природных очагов МЭЧ и ГАЧ на территории РФ. Это может быть обусловлено как отсутствием настороженности врачей-клиницистов в отношении данных заболеваний, так и, прежде всего, отсутствием в настоящее время на рынке зарегистрированных

серологических тест-систем для выявления специфических антител к возбудителям МЭЧ и ГАЧ. За 9-летний период наблюдения летальных исходов при МЭЧ и ГАЧ зафиксировано не было, хотя, например, в США летальность при МЭЧ составляет около 1%, при ГАЧ – 0,3% [K. Nichols Heitman et al., 2016; F.S. Dahlgren et al., 2015].

Поскольку большая часть наших исследований проводилась на территории Свердловской области – территории эндемичной по КЭ и БЛ, за 17-летний период наблюдения (2005-2021 гг.) были изучены динамика уровня и структуры заболеваемости данными нозологиями. В ходе исследования было выявлено как сходство, так и различие в проявлении эпидемического процесса КЭ и БЛ. Схожие черты заключались в совпадении сезонности (май, июнь), что связано с активностью основных переносчиков на территории Свердловской области клещей *I. persulcatus*; эпидемического подъема заболеваемости в июне и июле с пиком в июне месяце; заболеваемости преимущественно среди горожан (для КЭ – 66,1%, для БЛ – 92,9%); преобладания в возрастной структуре заболевших лиц 60 лет и старше (для КЭ – 24,6%, для БЛ – 39,5%), однако в совокупности основная доля заболевших пришлась на трудоспособный возраст. Различие проявлялось в интенсивности заболеваемости БЛ в период сезонного подъема, которая превысила интенсивность сезонного подъема заболеваемости КЭ в 3,8 раза; продолжительности эпидемического сезона (для КЭ – 8 месяцев, с апреля по ноябрь, для БЛ – 10 месяцев, с марта по декабрь); заболеваемости КЭ преимущественно среди лиц мужского пола; среди многообразия клинических форм КЭ преобладала лихорадочная, доля которой уменьшилась в сторону увеличения менингеальной и очаговых форм среди непривитых пациентов, в структуре клинических форм БЛ преобладала эритемная форма по сравнению с безэритемной (62,7% и 37,3% соответственно); регистрируемой летальности только среди непривитых больных КЭ. Показано, что проводимая в Свердловской области кампания массовой вакцинопрофилактики привела к увеличению доли лихорадочных и стертых форм заболевания и снижению доли очаговых. Среди очаговых форм КЭ 98% пришлось на непривитых пациентов и только 2% – на привитых. Летальных исходов среди привитых на территории области за анализируемый период не наблюдалось. Однако, на соседних территориях – Челябинской и Курганской областях нами были выявлены два случая летальных исходов у многократно вакцинированных больных [В.В. Погодина с соавт., 2013; 2015]. Следует отметить, что постановка диагноза эритемной формы БЛ не представляет трудностей, но безэритемная форма заболевания требует дифференциальной диагностики с наиболее распространенной лихорадочной формой КЭ и другими клещевыми инфекциями (например, БМ, МЭЧ, ГАЧ).

Социально-экономическое бремя клещевого энцефалита и болезни Лайма в Российской Федерации

Расчетное экономическое бремя КЭ в РФ, обусловленное заболеваемостью за один календарный год (при среднегодовой численности больных 3123 человека за период 2006-2012 гг.), составило 1,26 млрд руб. При этом установлено, что КЭ приводит к потере 4177 лет трудоспособной жизни. Расчетное бремя БЛ составило 782,9 млн руб. (при среднегодовой численности больных 8195 человек за аналогичный период). Установлено, что БЛ приводит к потере 16370 лет трудоспособной жизни. Таким образом, общее социально-экономическое бремя, обусловленное КЭ и БЛ,

составило (по ценам 2011 г.) 2,04 млрд руб. и привело к потере 20 547 лет трудоспособной жизни.

Источники экономических потерь определяются течением заболеваний: это и текущие медицинские расходы на пребывание в стационаре, и текущие немедицинские расходы (выплата пособий по временной нетрудоспособности, упущенный вклад в производство), а также отложенные немедицинские расходы, возникающие вследствие хронизации заболевания и смерти пациентов, если такие события имеют место. Основная доля в структуре расходов по формам заболевания КЭ приходится на очаговую форму (81,2%), по видам затрат – на немедицинские расходы (86,2%); в медицинских расходах ведущую роль играют текущие затраты на лечение КЭ в остром периоде, в немедицинских – отложенные потери, связанные с инвалидизацией больных в результате заболевания и смертностью больных в трудоспособном возрасте. При БЛ основная доля расходов приходится на эритемную форму заболевания (75,0%), на безэритемную форму – только четверть всех расходов (25,0%), по видам затрат – на немедицинские расходы (55,8%), в медицинских расходах ведущую роль играют текущие затраты на лечение БЛ в остром периоде, а отложенные медицинские расходы обусловлены хронизацией заболевания, отложенные немедицинские затраты образуются из-за временной нетрудоспособности больных с хроническим течением болезни.

Различия в размере социально-экономического бремени КЭ и БЛ между регионами обусловлены как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи. Среди субъектов РФ лидерами по величине социально-экономического бремени КЭ явились: Красноярский край (203 млн руб.), Тюменская область (86 млн руб.), Томская область (74 млн руб.), Свердловская область (66 млн руб.) и Пермский край (58 млн руб.). В случае БЛ лидерами по величине социально-экономического бремени явились: Москва (135 млн руб.), Санкт-Петербург (77 млн руб.), Свердловская область (74 млн руб.), Пермский край (39 млн руб.), Кировская область (36 млн руб.). Установлено, что несмотря на различия в экономических показателях между регионами (финансирование медицинской помощи, валовый региональный продукт и средняя заработная плата), прослеживается прямая связь между фактическими средними затратами и общим количеством заболевших по регионам.

Величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должна определяться дифференцировано, с учетом различия размеров социально-экономического бремени заболеваний по регионам и наиболее значимым природно-очаговым трансмиссивным клещевым инфекциям для регионов. Применение предлагаемой медико-экономической методологии должно предоставить фактическую основу для принятия управленческих решений. Разумеется, конкретные оценки ущерба от инфекционных заболеваний могут и должны меняться в зависимости от эпидемиологической ситуации и экономической обстановки в стране. Однако дополнительные организационные мероприятия и финансовые вложения, адекватные относительно высокому и достаточно стабильному бремени трансмиссивных клещевых инфекций, в частности, изученных в данной работе – КЭ и БЛ, несомненно, будут оправданы как с социальной, так и с экономической точки зрения.

Разработка, оптимизация условий и апробация ПЦР-методик в режиме реального времени для диагностики клещевого энцефалита и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами

В целях совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными клещевыми инфекциями, такими как БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ на территории РФ были разработаны, оптимизированы, апробированы две методики, основанные на ПЦР в режиме реального времени. Первая методика направлена на одновременное выявление возбудителей КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ, а вторая – *V. miyamotoi*. В настоящее время обе методики зарегистрированы на территории РФ и имеют коммерческие названия: «АмплиСенс® *TBEV, V. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09026 от 22.02.2019)» и «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019) (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Данные наборы реагентов широко внедрены в практику работы учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, научно-исследовательских институтов, зачастую на базе которых находятся референс-лаборатории, а также других диагностических лабораторий. Данные ПЦР-методики, обладая высокой специфичностью (до 100%) и чувствительностью (5×10^3 ГЭ/мл для каждого из заявленных патогенов в тест-системе *TBEV, V. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris* и 1×10^3 ГЭ/мл – для *V. miyamotoi*) легли в основу микробиологического мониторинга иксодовых клещей и специфической лабораторной диагностики вышеперечисленных заболеваний в ходе выполнения 4 и 5 задач диссертационного исследования. Клиническая апробация данных методик проводилась на территории Свердловской области. Материалом для исследования послужили кровь (плазма, сыворотка), СМЖ, аутопсийный материал. Результаты работы позволили внедрить данные методики в практику работы региональных врачей-неврологов, инфекционистов и показали необходимость дифференциальной диагностики лихорадочной (реже менингеальной) формы КЭ с новым ранее неизвестным боррелиозом, вызываемым *V. miyamotoi*. Одновременное обнаружение четырех патогенов, передаваемых одним видом переносчика, существенно сократило время выявления возбудителей в клещах и проведения дифференциальной диагностики лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, и на сегодняшний день является удобным форматом исследования для специалиста клинической лабораторной диагностики. Включение в комплекс методик тест-системы для выявления *V. miyamotoi* представляет уникальную возможность для диагностики новой, ранее неизвестной инфекции, вызываемой данным возбудителем.

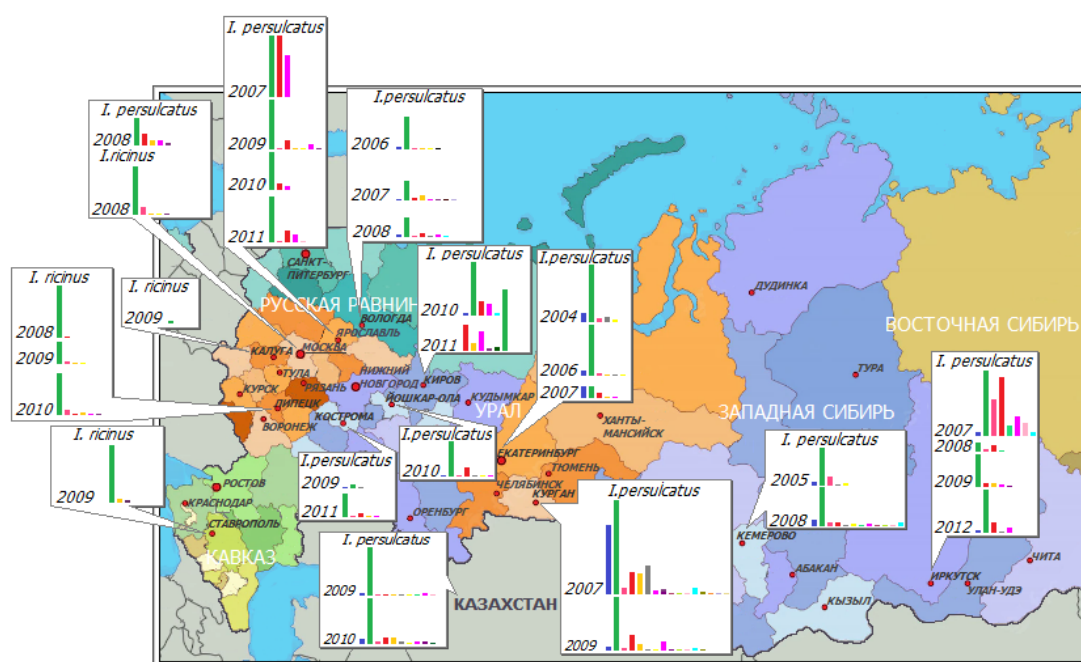
Молекулярно-биологический мониторинг распространения вируса клещевого энцефалита и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами

Показателем оценки напряженности природного очага является определение уровня инфицированности клещей возбудителями различных клещевых инфекций. В ходе работы были исследованы иксодовые клещи (*I. persulcatus* и *I. ricinus*), собранные в эпидемические сезоны 2004–2013 гг. в очагах Центрального (Московская,

Ярославская, Костромская, Липецкая области), Северо-западного (Вологодская область), Уральского (Курганская, Свердловская области), Приволжского (Кировская область, Республика Марий Эл), Сибирского (Кемеровская, Иркутская области), Северо-Кавказского (Ставропольский край) ФО РФ и в Республике Казахстан (Восточно-Казахстанская, Кызылординская и Алматинская области). Дополнительно были исследованы клещи, снятые с людей на территории Свердловской области в 2009 г. Все клещи исследовались по одному в биопробе. Всего было исследовано 7768 клещей, из них 7030 – собранных в природе и 738 – снятых с людей. Переносчики исследовались на присутствие в них следующих патогенов: вируса КЭ (*TBEV*), боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., боррелий группы возвратных лихорадок – *B. miyamotoi*, возбудителей ГАЧ (*A. phagocytophilum*) и МЭЧ (*E. chaffeensis* и *E. muris* без дифференциации). Поскольку сведения об инфицированности иксодовых клещей возбудителями исследуемых клещевых инфекций носят обобщенный и весьма приблизительный характер, этот показатель подвержен вариабельности в большей степени не только при его оценке в отдельных регионах, но и в случае анализа на более ограниченной территории (например, в пределах какого-то района отдельной области), являясь, по сути, средней величиной анализа этого показателя в исследованных очагах. Установлено, что изученные патогены встречаются в клещах-переносчиках практически во всех исследованных нами регионах (рисунок 6). Все пять патогенов были выявлены на территории 4 субъектов РФ – Вологодской, Свердловской, Курганской, Иркутской областях и на всех изученных территориях Республики Казахстан. Максимальная зараженность переносчиков различными возбудителями в разных сочетаниях была выявлена на территории Курганской области в 2007 г., минимальная – при исследовании клещей из Калужской области (2009 г.). Важным является тот факт, что на исследованных территориях от 0,6% (Липецкая область 2009, 2010 гг.) до 45,8% (Курганская область, 2007 г.) клещей, положительных в ПЦР на какой-либо из вышеперечисленных возбудителей, содержали одновременно два и более патогенов. Наличие переносчика, способного быть резервуаром как одного, так и одновременно нескольких патогенных для человека микроорганизмов, возможность передачи этих возбудителей в самых различных сочетаниях определяют развитие микст-инфекции, а, следовательно, каждый случай присасывания клеща следует рассматривать как возможную сочетанную инфекцию.

Установлено, что важной особенностью эпидемиологии трансмиссивных клещевых инфекций на территории РФ и Республики Казахстан является доминирование сибирского подтипа вируса КЭ, обнаружение двух геновидов боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. патогенных для человека – *B. afzelii* и *B. garinii* (геновиды NT29, 20047), азиатского и европейского генотипов *B. miyamotoi*.

В целом проведенный мониторинг природных очагов инфекций, передающихся иксодовыми клещами, позволил получить информацию необходимую для проведения противоэпидемических мероприятий в регионах, эндемичных по этим инфекциям, а также показал необходимость расширения спектра используемых методик на основе ПЦР в режиме реального времени для лабораторной диагностики клещевых инфекций в условиях работы лабораторной службы различных практических и научных учреждений.



УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

- | | |
|--|--|
| ■ TBEV | ■ TBEV + <i>A. phagocytophilum</i> |
| ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato | ■ TBEV + <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>A. phagocytophilum</i> |
| ■ <i>A. phagocytophilum</i> | ■ <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> | ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ <i>B. miyamotoi</i> | ■ TBEV + <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ TBEV + <i>B. burgdorferi</i> sensu lato | ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>A. phagocytophilum</i> | ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> |
| ■ <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> | ■ TBEV + <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ TBEV + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> | ■ TBEV + <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>B. miyamotoi</i> | ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> |
| ■ <i>B. burgdorferi</i> sensu lato + <i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i> | |

Рисунок 6 – Картограмма распределения инфицированных клещей (собранных из природы) на изученных территориях, высота столбика является условным графическим отображением доли инфицированных клещей

Эпидемиологическая, клинично-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на эндемичной территории (по материалам Свердловской области)

За изученный период (2009-2021 гг.) было проведено комплексное эпидемиологическое, клинично-лабораторное обследование 1205 больных, которые поступили в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (Городской центр природно-очаговых инфекций) по поводу заболеваний, развившихся после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности иксодовых клещей. Из них 1076 пациентам диагноз одной или нескольких дифференцируемых трансмиссивных клещевых инфекций был подтвержден (включая диагноз «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими» – ВЛПЧ). Специфическое лабораторное обследование включало ПЦР-диагностику и серологическое исследование материала (ИФА, планарный белковый биочип). Установлено, что в структуре инфекций, передающихся

иксодовыми клещами, на территории области, помимо КЭ и БЛ, представляют эпидемиологическую значимость такие «новые» инфекции, как БМ, ГАЧ и МЭЧ (таблица 2). В настоящем исследовании случаи МЭЧ были выявлены только в сочетании с другими клещевыми инфекциями, поэтому в таблице 2 обобщены в графе – подтвержденный диагноз «Клещевая микст-инфекция».

Таблица 2 – Количество и этиологическая структура обследованных больных

Диагнозы	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2021	Всего
Обследовано с диагнозом «Клещевая инфекция?»	221	115	83	10	75	115	262	85	239	1205
Подтвержденный диагноз «Клещевая инфекция»	196	105	52	3	65	104	250	74	227	1076
Подтвержденный диагноз «КЭ»	16	12	0	0	4	10	20	15	18	95
Подтвержденный диагноз «БЛ, эритемная форма»	79	54	0	0	10	9	70	13	39	274
Подтвержденный диагноз «БЛ, безэритемная форма»	31	15	3	0	6	28	59	7	35	184
Подтвержденный диагноз «Боррелиоз, вызываемый <i>B. miyamotoi</i> »	44	13	37	3	24	25	36	19	5	206
Подтвержденный диагноз «ГАЧ»	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7
Подтвержденный диагноз «Клещевая микст-инфекция»	19	10	11	0	9	17	23	6	106	201
Диагноз «ВЛПЧ»	7	1	1	0	12	15	42	14	17	109

До начала нашего исследования (2009 г.) более 20% случаев заболеваний, возникших после присасывания иксодовых клещей проходили под диагнозом «ВЛПЧ», т.е. такие пациенты по результатам отрицательных серологических исследований не получали должного специфического лечения. К 2021 г. число случаев данного диагноза сократилось до 7,5%. В Свердловской области из всего возможного разнообразия инфекций, передающихся иксодовыми клещами, серологическая диагностика проводится только в отношении КЭ и БЛ. В ходе исследования среди обследованных пациентов мы выявили 6 нозологий (КЭ, эритемная форма БЛ, безэритемная форма БЛ, БМ, ГАЧ, ВЛПЧ). Для верификации ВЛПЧ и изучения разнообразия клещевых инфекций в 2021 г. мы провели дополнительные молекулярно-биологические исследования на вирусы Кемерово, Джингмен (включая Алонгшан), Хасеки, Кулихорадку, риккетсиоз, ГАЧ, МЭЧ, которые дали отрицательные результаты. Ретроспективное серологическое обследование пациентов на ГАЧ методом ИФА позволило расшифровать диагноз ВЛПЧ у 7 человек, остальные выявленные случаи

ГАЧ были связаны с клещевой микст-инфекцией той или иной этиологии; моноинфекции МЭЧ выявлено не было, все случаи представляли микст-инфекцию в различных сочетаниях с клещевыми инфекциями; серологическое обследование на клещевой риккетсиоз у ряда пациентов нашей группы позволило выявить только IgM, но не IgG (отсутствие сероконверсии), поэтому о возможной роли риккетсиоза в структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на территории Свердловской области свидетельствовать преждевременно, требуется проведение дополнительных целенаправленных исследований.

За период изучения выявлено, что в 18,7% случаев трансмиссивные клещевые заболевания протекают в виде микст-инфекции. В 2021 г. в связи с дополнительно проведенными серологическими исследованиями на IgM и IgG к анаплазмам и эрлихиям процент выявленных микст-форм заболеваний достиг 50,5% (рисунок 7).

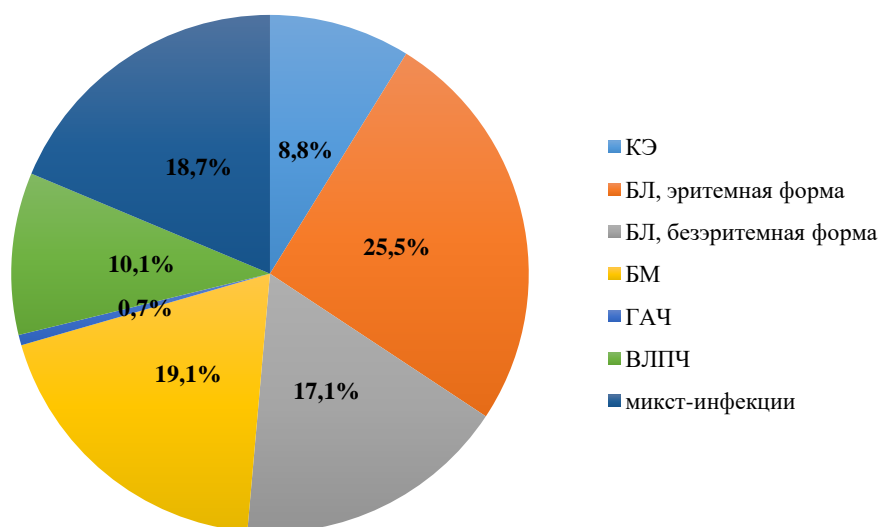


Рисунок 7 – Доля моно- и микст-инфекций среди пациентов ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга за весь изученный период (2009-2021 гг.)

В процессе изучения было установлено, что клещевые боррелиозы на территории Свердловской области в структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами, являются преобладающими и составляют 79,8% и могут быть вызваны двумя группами боррелий – боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. (геновид *B. garinii*) и *B. miyamotoi* s.l. (азиатский генотип *B. miyamotoi*), причем *B. miyamotoi* является этиологическим агентом только безэритемной формы боррелиоза, в то время как *B. garinii* – эритемной и безэритемной клинических форм. Этиологическим агентом КЭ на территории области является сибирский подтип вируса КЭ (субгенотип «Заусаев»).

В ходе данного исследования нам удалось впервые в мире выделить клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi* из крови пациентов Свердловской области, которым диагноз был поставлен на основании метода ПЦР. Изучение некоторых из них (Yekat-1 и Yekat-6) на чувствительность к антибактериальным препаратам *in vitro* позволило установить, что данные изоляты чувствительны к доксициклину, цефтриаксону, азитромицину, но резистентны к амоксицилину, который входит в схемы лечения БЛ у взрослых и детей. До результатов данной работы БМ лечили эмпирически согласно схеме лечения эритемной формы БЛ.

При изучении эпидемиологических и клинико-лабораторных показателей как моно-, так и микст-инфекций КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), БМ, ГАЧ, МЭЧ, ВЛПЧ было установлено, что общими эпидемиологическими характеристиками для вышеперечисленных инфекций являются: трансмиссивный механизм передачи возбудителей; преобладание заболеваний в группах лиц среднего и старшего возраста; наибольшее количество случаев заражения возбудителями той или иной клещевой инфекции происходит в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга; наиболее излюбленными местами присасываний иксодовых клещей являются верхние и нижние конечности, живот, реже другие области тела; длительность присасывания иксодовых клещей в большинстве случаев составляет не более суток. Различия наблюдаются при заболевании той или иной клещевой инфекцией по половому признаку, так при моноинфекции КЭ, БМ, ВЛПЧ наиболее часто болеют лица мужского пола, а при безэритемной форме БЛ – чаще болеют женщины; варьирует частота инфицирования тем или иным возбудителем при посещении природного (лес) или антропоургического очагов (садово-огородный участок, городская лесопарковая зона); раньше за медицинской помощью обращаются больные с БМ и ВЛПЧ, в среднем через трое-четверо суток после появления первых симптомов заболевания.

Клиническая симптоматика при инфекциях, передающихся иксодовыми клещами, оказалась схожей, т.к. практически при всех нозологиях имел место общеинфекционный синдром с повышением температуры в разгаре заболевания до субфебрильных и фебрильных цифр, исключение составила эритемная форма БЛ. При эритемной форме БЛ клинический диагноз выставлялся по наличию мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща или наличию множественных эритем при диссеминации инфекции с учетом данных эпидемиологического анамнеза. Также при эритемной форме БЛ общеинфекционный синдром имел место только в 50% случаев по сравнению с другими нозологиями (от 62% до 97%). Все остальные клинические симптомы оказались неспецифичными, однако наиболее выражены симптомы общеинфекционного синдрома были при моноинфекциях БМ, КЭ (лихорадочная форма), безэритемной форме БЛ, ВЛПЧ. Менингеальные симптомы в группах с микст-инфекцией КЭ были связаны с менингеальной или менингоэнцефалитической формами заболевания, хотя менингеальные симптомы в одном случае были выявлены у пациента с моноинфекцией ГАЧ. При микст-инфекциях в том или ином сочетании частота клинических симптомов сильно варьировала, однако, по результатам наших исследований нельзя сказать, что микст-инфекции клинически протекали тяжелее. Например, при БМ, при котором наиболее часто выражен интоксикационный синдром, в сочетании с другими нозологиями утяжеления течения установлено не было, напротив моноинфекция БМ клинически протекала тяжелее, чем микст-инфекция БМ. При оценке лабораторных показателей мы отметили, что при КЭ (лихорадочная форма) достоверно чаще встречаются лейкоцитоз и гранулоцитоз. В разгаре БМ имеется склонность к лейкопении, лимфоцитопении, тромбоцитопении, моноцитопении, относительному увеличению доли палочкоядерных нейтрофилов, гранулоцитозу, повышению ферментов печени (АЛТ, АСТ), С-реактивного белка, повышению глюкозы. Изменение этих же показателей отличает период разгара БМ от разгара эритемной формы БЛ, при которой чаще наблюдаются повышение СОЭ, С-реактивного белка, моноцитоз. При безэритемной форме БЛ достоверно чаще встречаются лимфоцитоз, увеличение палочкоядерных нейтрофилов (по сравнению с

ВЛПЧ). ВЛПЧ характеризуется склонностью к лейкопении (по сравнению с группой пациентов с эритемной формой БЛ). Остальные изменения показателей крови статистически не достоверны. У большинства пациентов при изученных нозологиях наблюдалась гипостенурия, у пациентов с БМ – также и протеинурия. Поскольку исследования на МЭЧ и ГАЧ мы начали только в 2021 г. (было выявлено 7 случаев моноинфекции ГАЧ, остальные случаи были связаны с микст-инфекцией, а МЭЧ был выявлен только в сочетании с какой-либо клещевой инфекцией) на сегодняшний день не представляется возможным установить статистически значимые различия по изменению показателей крови и мочи у пациентов с данными нозологиями.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что опираясь на знания об эндемичности региона по той или иной клещевой инфекции, данных эпидемиологических и клинико-лабораторных исследований можно поставить достоверный диагноз только в случае БЛ эритемной формы, все остальные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, можно только заподозрить, но окончательный диагноз может быть поставлен только по результатам специфической лабораторной диагностики, основанной на комплексном применении молекулярно-биологических и серологических методов исследования.

Специфическая лабораторная диагностика клещевого энцефалита и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами

Показано, что в основе специфической лабораторной диагностики КЭ лежит серологическая диагностика, однако ПЦР-диагностика может давать положительные результаты во время «серологического окна», когда специфические антитела к вирусу КЭ еще не выработались, либо у серонегативных больных. По результатам наших исследований установлено, что диагностическая чувствительность метода ПЦР не превышает 20-30% по сравнению с серологическими методами исследования.

Представленные данные по специфической лабораторной диагностике БЛ (эритемная и безэритемная формы) позволяют заключить, что диагноз при эритемной форме БЛ должен основываться, прежде всего, на клинико-эпидемиологических данных (наличие мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща и посещения лесной зоны в эпидемический сезон), т.к. диагностическая чувствительность ИФА, по результатам наших исследований, составила только 56,5%. У пациентов с безэритемной формой БЛ диагноз может быть поставлен исключительно на основании положительных результатов серологической диагностики. Молекулярно-генетические методы (ПЦР) в диагностике БЛ могут выступать только в качестве дополнительных методов исследования, т.к. обладают невысокой диагностической чувствительностью (не более 20%) вследствие патогенеза инфекции. В случае выявления генетического материала *B. burgdorferi* s.l. в крови больного с эритемной формой заболевания можно предположить переход ранней локализованной формы БЛ в раннюю диссеминированную, которая требует пересмотра схемы специфического лечения.

Нами показано, что в алгоритме специфической лабораторной диагностики безэритемной формы «нового» боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* на первое место выходит ПЦР-диагностика заболевания. Диагностическая чувствительность и специфичность метода ПЦР в диагностике БМ достигает 100% относительно серодиагностики. Серологические методы исследования данного заболевания в настоящее время только разрабатываются, например, планарный белковый биочип

(разработанный в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора), диагностическая чувствительность которого, по результатам нашего исследования, для IgM составила 60,6%, для IgG – 56,8%. Стандартные зарегистрированные ИФА тест-системы, которые применяются для выявления специфических антител к антигенам боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. могут быть неэффективны, поскольку не содержат антигены (в частности, glpQ и Vmp антигены), которые есть только у боррелий возвратных лихорадок, к которым относится *B. miyamotoi*. По результатам наших исследований диагностическая чувствительность существующих коммерческих ИФА тест-систем для выявления антител к возбудителям БЛ в отношении диагностики БМ составила для IgM – 34,3%, для IgG – 11,2%. Таким образом, метод планарного белкового биочипа на сегодняшний день является единственным серологическим методом диагностики БМ.

Для специфической лабораторной диагностики МЭЧ и ГАЧ мы использовали методы ИФА (для выявления специфических IgM и IgG) и ПЦР (для выявления генетического материала анаплазм и эрлихий). К сожалению, методом ПЦР только в одном случае в крови удалось выявить 16S рРНК эрлихий. Во всех остальных случаях диагноз был поставлен на основании сероконверсии IgM и IgG. Положительные находки ДНК *A. phagocytophilum* выявлены не были. Возможно, отрицательные результаты на выявление генетического материала анаплазм методом ПЦР обусловлены ранними сроками взятия биоматериала (первые двое суток поступления пациента в стационар), что для нас было принципиальным моментом в исследовании, а также, другими видами анаплазм и исследуемым материалом (например, *A. carpa* – новый возбудитель ГАЧ, поражает эритроциты).

Проведенные нами иммунологические исследования показали, что у вакцинированных против КЭ больных наблюдается три варианта динамики гуморального иммунитета: сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика титров антител. При стабильных титрах IgG у вакцинированных лиц доказательством инфекции, вызванной вирусом КЭ, является выявление в СМЖ IgM, антигена вируса КЭ методом ИФА и вирусной РНК методом ПЦР. Особое значение имеет изоляция вируса с последующим его генотипированием. В случае выявления у вакцинированных больных IgM в сыворотке крови необходимо уточнять сроки последней вакцинации или ревакцинации, т.к. показано, что IgM могут определяться в крови до трех месяцев [Н. Holzmann, 2003]. В качестве дополнительного метода, подтверждающего диагноз КЭ мы рекомендуем применять реакции, дифференцирующие иммунный ответ к вакцинному штамму и к этиологическому агенту, если они генетически отличаются.

Изучение этиологической роли и патогенного потенциала доминирующего на территории Российской Федерации сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита на современном этапе

В настоящее время кардинально изменились представления о патогенности сибирского подтипа вируса КЭ для человека. Гипотеза о том, что дальневосточный и сибирский подтипы вируса КЭ связаны с разными нозологическими формами, не нашла подтверждения, как и мнение о слабой патогенности сибирского подтипа. Клинико-вирусологические, иммунологические, молекулярно-генетические, морфологические исследования доказывают способность сибирского подтипа вызывать инаппарантную, лихорадочную, менингеальную, тяжелые хронические,

очаговые формы заболевания, а также летальные исходы [В.В. Погодина с соавт., 2009; 2013; 2015; T.S. Gritsun et al., 2003]. На группе примеров нами показано (исследовано 18 случаев КЭ с летальным исходом за период 2008-2014 гг.), что сибирский подтип вируса КЭ способен вызывать самое тяжелое течение КЭ с многоуровневым поражением ЦНС. Этиологическая роль сибирского подтипа при тяжелейших очаговых формах подтверждена генотипированием вирусной РНК, изолированной непосредственно из мозга погибших больных, а также типированием выделенных штаммов. Нами показано, что летальные исходы КЭ, связанные с сибирским подтипом возбудителя, регистрируются в различных регионах, где он циркулирует, в частности, на изученных нами территориях – Ярославской, Вологодской, Свердловской, Курганской, Челябинской, Кемеровской областей. Отягощающими факторами являются: старший возраст невакцинированных больных, множественные присасывания клещей, высокая вирулентность штаммов, сопутствующие заболевания (у некоторых погибших была диагностирована БЛ), антибактериальная терапия, которая может приводить к иммуносупрессии. При бульбарном синдроме больные получали иммуноглобулин человека против КЭ. На сегодняшний день схемы введения этого препарата, дозы, титр антител являются предметом дискуссии.

Нами описаны два случая летальных исходов от КЭ у многократно вакцинированных пациентов. Отсутствие в литературе описания подобных случаев свидетельствует об их исключительной редкости или трудности диагностики. Оба случая, исследованные нами, имеют сходство: а) зона циркуляции сибирского подтипа вируса КЭ, вакцинация гетеротипичными вакцинами; б) многократные прививки с сокращенными интервалами между отдельными ревакцинациями; в) быстрота развития заболевания и летального исхода (55 ч и 9 сут) в отличие от времени смерти невакцинированных больных (15, 23 и 29-й дни болезни). В инструкциях по применению вакцин против КЭ число ревакцинаций не ограничено. Между тем известно, что гипервакцинация, излишняя антигенная нагрузка нежелательны из-за риска осложнений, образования иммунных комплексов и возможного развития феномена антителозависимого усиления инфекции, которое наблюдается при инфекции, вызванной вирусом Денге. Данный феномен был воспроизведен *in vitro* с вирусом КЭ [С.В. Ожерелков с соавт., 2008]. Важен принцип индивидуального подхода к вакцинации с учетом иммунного статуса реципиента, который еще не вошел в практику специфической профилактики КЭ. Обращает на себя внимание высокий уровень гуморального иммунитета (IgG 1:1600) в двух описанных случаях летального КЭ у вакцинированных пациентов. При сравнительном изучении российских и зарубежных вакцин против КЭ показатель в ИФА IgG 1:1600 свидетельствовал о высокой иммуногенности препаратов [В.В. Романенко с соавт., 2010]. Несоответствие природных штаммов вакцинным может играть роль в выработке защитных титров антител (нейтрализующих антител) против доминирующего сибирского подтипа вируса. Причины неэффективности вакцинации у умерших больных с высоким уровнем иммунитета требуют целенаправленного изучения.

Результаты изучения нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных изолятов (штаммов) вируса КЭ сибирского подтипа, выделенных при очаговых формах, в том числе с летальным исходом, лихорадочной или стертой формах заболевания, свидетельствуют об их высокой нейроинвазивности и нейровирулентности в опытах на белых мышах и сирийских хомяках (таблица 3).

Таблица 3 – Особенности вирулентности и нейроинвазивности современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа в опытах на белых мышах и сирийских хомяках

Регион РФ	Год изоляции	Клиническая форма КЭ/летальный исход	Штамм	Номер в GenBank	Белые мыши			Сирийские хомяки	
					lg ЛД50/мл, заражение		индекс инвазивности	% гибели	СПЖ* в днях
					в мозг	под кожу			
Ярославская область	2008	Летальный исход	ЯР-Ав-08	GQ845440	7,8	6,9	0,9	90	13
	2008	Летальный исход	ЯР-Бел-2008	GQ845439	7,7	6,8	0,9	12,5	30
Вологодская область	2008	Летальный исход	Вологда-7-2008	GQ845438	7,5	6,6	0,9	50	18
Свердловская область	2009	Летальный исход	Ек-Ег-09	KJ936629	7,7	6,2	1,5	63,5	13
	2009	Летальный исход	Ек-Жиг-09	KJ936630	7,9	6,2	1,7	20	13
	2021	Энцефалитическая форма	Ек-Гав-21	OM363218	7,8	6,3	1,5	ни	ни
	2021	Стертая/лихорадочная форма	Ек-Ар-21	OM363219	6,2	4,6	1,6	ни	ни
	2021	Стертая/лихорадочная форма	Ек-Мос-21	OM363220	6,0	5,6	0,4	ни	ни
Челябинская область	2012	Летальный исход	Чел-АБД-12	KJ936631	7,9	6,3	1,6	ни	ни
Курганская область	2010	Летальный исход	Курган-118-2010	KY319395	6,3	5,2	1,1	40	20
Кемеровская область	2013	Летальный исход	Кем-Кич-13	KJ936632	6,3	4,4	1,9	ни	ни

Примечание: ни – не исследовались; * – средняя продолжительность жизни (СПЖ)

Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, на основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики

Учитывая разнообразие клещевых инфекций, установление этиологической роли нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* в структуре клещевых инфекций, высокую степень распространенности возбудителей и случаи заболевания ГАЧ и МЭЧ, диагностика которых в настоящее время не налажена, необходима оптимизация и внедрение в практику врача алгоритма дифференциальной диагностики инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*. В основе алгоритма должна лежать комплексная диагностика с применением современных молекулярно-биологических (ПЦР в режиме реального времени – ПЦР-PPV) и серологических методов исследования (ИФА, планарный белковый биочип – для серодиагностики БМ), которые в настоящее время редко используются в клинической практике или не используются совсем в силу их ограниченной доступности.

Основываясь на полученных в ходе исследования результатах, нами разработан двухэтапный алгоритм дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Данный алгоритм является инструментом для врача-клинициста как в постановке диагноза, так и принятии решений в отношении профилактических мер в случае выявления в клеще патогенов. Первый этап направлен на исследование клеща-переносчика от пострадавшего (рисунок 8), второй этап – это собственно алгоритм дифференциальной диагностики, включающий данные эпидемиологического анамнеза, клинической симптоматики, результатов лабораторных исследований, в том числе специфической лабораторной диагностики (рисунок 9). Основной задачей внедрения алгоритма дифференциальной диагностики является совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

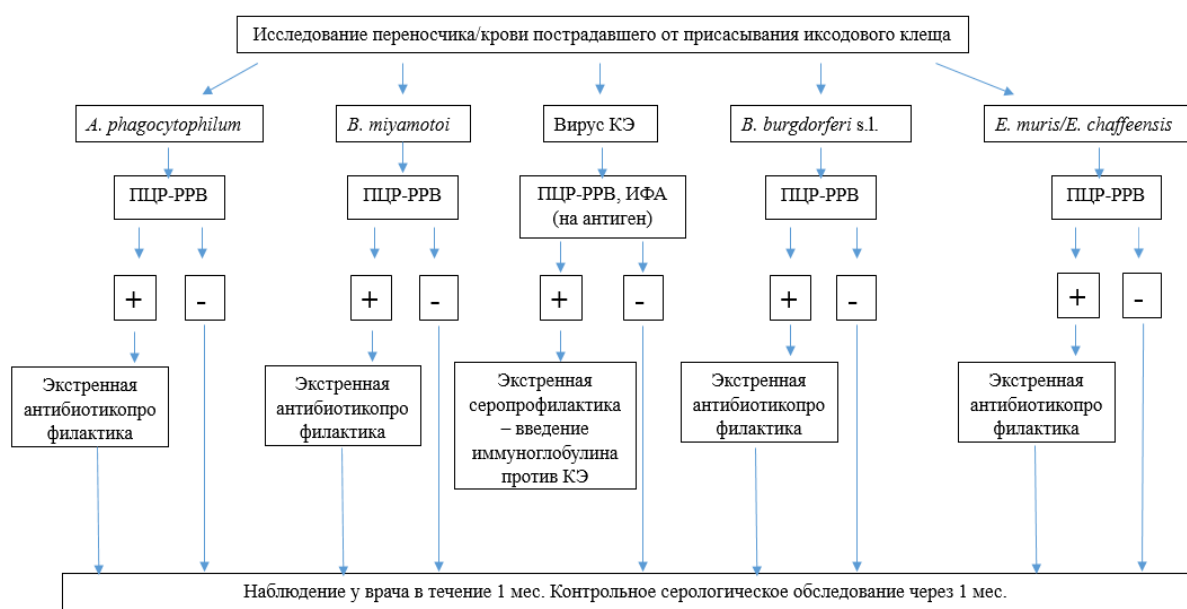
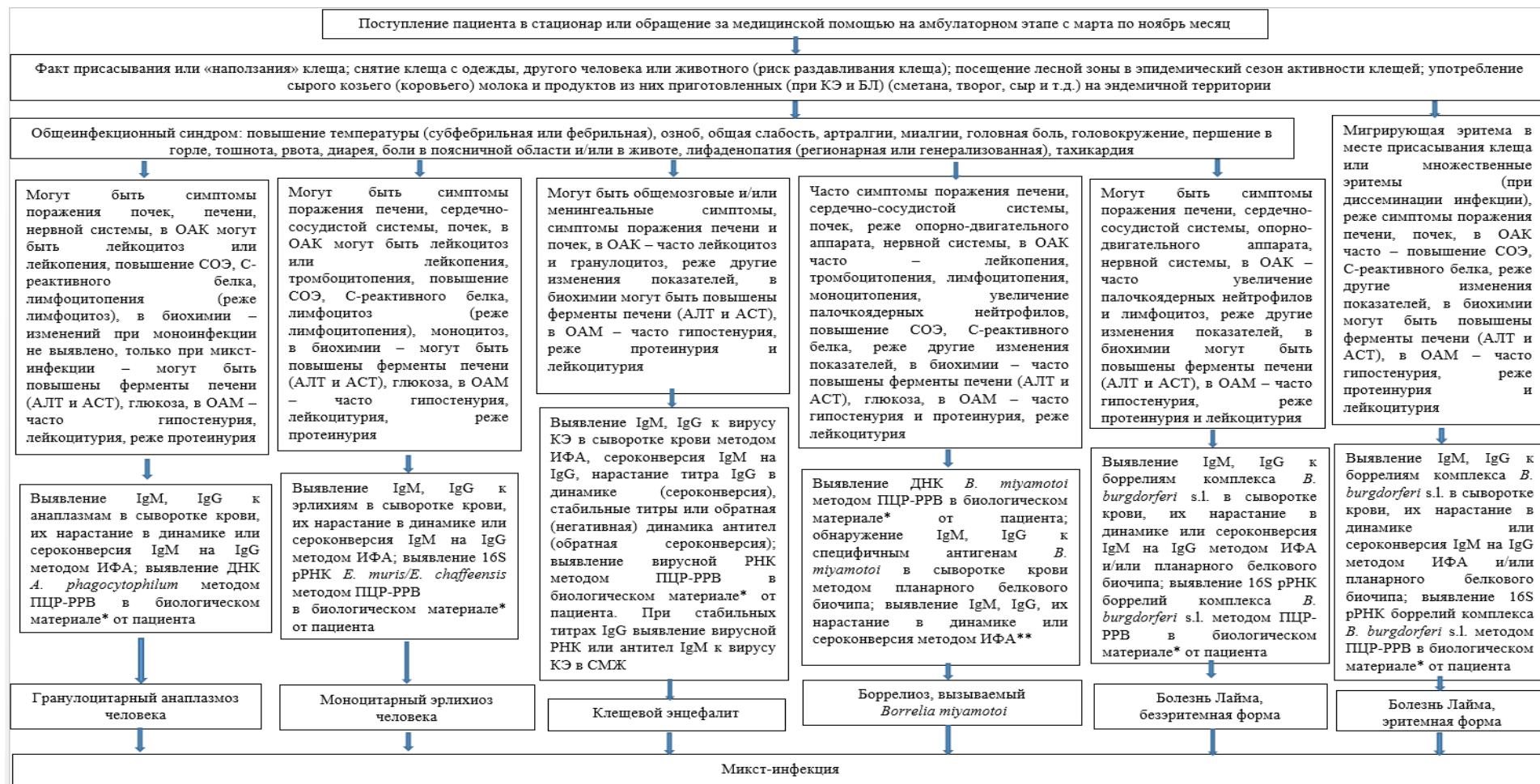


Рисунок 8 – Алгоритм диагностических исследований и тактика профилактических мероприятий у лиц, пострадавших от присасывания клеща в условиях сочетанности природных очагов (схема 1)



Примечание: *лейкоцитарная фракция крови с плазмой, СМЖ (при наличии); **применение стандартных ИФА тест-систем для выявления антител к возбудителям БЛ

Рисунок 9 – Алгоритм диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в условиях сочетанности природных очагов (схема 2)

ВЫВОДЫ

1. Дана комплексная характеристика современной эпидемиологической ситуации в РФ в целом и на высокоэндемичных территориях с различными динамикой и структурой заболеваемости (УФО, СФО, СЗФО) по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, которая свидетельствует о неухаживающей активности природных очагов данных инфекционных болезней в масштабах страны, несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости ими в период эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции (2020-2021 гг.).

2. Проведен сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на примере Свердловской области в ходе которого установлено, что интенсивность заболеваемости БЛ в период сезонного подъема в 3,8 раза превышает интенсивность сезонного подъема заболеваемости КЭ, продолжительность эпидемического сезона для КЭ составляет 8 месяцев (с апреля по ноябрь), для БЛ – 10 месяцев (с марта по декабрь) с пиком заболеваемости для обеих инфекций в июне, случаи заболевания КЭ и БЛ регистрируются преимущественно среди горожан (КЭ – 66,1%, БЛ – 92,9%), в возрастной структуре заболевших преобладают лица 60 лет и старше (для КЭ – 24,6%, для БЛ – 39,5%), при КЭ болеют чаще лица мужского пола, в структуре клинических форм заболеваний КЭ преобладает лихорадочная, при БЛ – эритемная, летальные исходы регистрируются только от КЭ среди невакцинированных пациентов.

3. Впервые на территории РФ изучено социально-экономическое бремя КЭ и БЛ и показано, что в совокупности КЭ и БЛ за один календарный год (по ценам 2011 г.) приводят к потере 20 547 лет трудоспособной жизни, а общее расчетное экономическое бремя в денежном эквиваленте составляет 2,04 млрд руб.; основная доля в структуре расходов для КЭ приходится на очаговую (81,2%), для БЛ – на эритемную (75,0%) формы заболевания.

4. Показано, что разработанные и оптимизированные методики на основе ПЦР в режиме реального времени обладают высокой чувствительностью (5×10^3 ГЭ/мл для всех заявленных микроорганизмов для «АмплиСенс® *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» и 1×10^3 ГЭ/мл для «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL») и специфичностью (до 100% для обеих методик). Данные методики широко используются как для мониторинга природных очагов КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ, так и для диагностики перечисленных заболеваний в клинической практике на эндемичных территориях.

5. Проведенный молекулярно-биологический мониторинг клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* показал широкое распространение возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ на территории РФ и Республики Казахстан; установлена циркуляция всех пяти видов изученных патогенных микроорганизмов в клещах из Вологодской, Свердловской, Курганской, Кировской и Иркутской областей, отмечен высокий процент микст-инфицирования переносчиков двумя и более патогенами (до 45,8%); в клещах определены патогенные для человека геновиды боррелий – *B. afzelii* и *B. garinii* (геноварианты NT29 и 20047), сибирский подтип вируса КЭ (азиатский и европейский топоварианты), азиатский и европейский генотипы *B. miyamotoi*.

6. Показано, что этиологическая структура инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на территории Свердловской области представлена КЭ (сибирский подтип вируса, субгенотип «Заусаев»), БЛ (боррелии комплекса *B. burgdorferi* s.l., геновид *B. garinii*), БМ (*B. miyamotoi*, азиатский генотип), ГАЧ и МЭЧ,

однако в 10,1% случаев этиологию заболевания, возникшего после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей установить не удалось (пациенты выписаны с диагнозом «ВЛПЧ»). Частота микст-форм заболеваний за период изучения составила 18,7%, а в 2021 г. достигла 50,5%.

7. Установлено, что большая часть безэритемных форм боррелиоза на территории Свердловской области этиологически связана с новым возбудителем, который входит в группу возбудителей возвратных лихорадок – *B. miyamotoi*. Изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*, выделенные от больных *in vitro* являются чувствительными к доксициклину, азитромицину и цефтриаксону, но проявляют устойчивость к амоксициллину, который входит в схемы лечения БЛ.

8. Показано, что в основе специфической лабораторной диагностики КЭ, БЛ, ГАЧ и МЭЧ лежит серодиагностика, в то время как специфическая диагностика боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, основана, прежде всего, на выявлении ДНК возбудителя в крови в первые двое суток поступления пациента в стационар (в лихорадочный период), затем на выявлении специфических для возвратных лихорадок IgM и IgG к антигенам glpQ и Vmp (метод планарного белкового биочипа). При постановке диагноза пациентам с КЭ (особенно вакцинированным) следует учитывать возможные три варианта динамики гуморального иммунитета.

9. Установлено, что сибирский подтип вируса КЭ является доминирующим на территории РФ на современном этапе и вызывает весь спектр клинических проявлений – от стертой до очаговых форм с летальным исходом; данный подтип является пантропным к различным структурам головного и спинного мозга, что подтверждается изоляцией РНК и изолятов (штаммов) вируса из них от погибших пациентов. Выделенные современные штаммы сибирского подтипа вируса обладают высокой нейроинвазивностью и нейровирулентностью в экспериментах на лабораторных животных (белые мыши и сирийские хомяки).

10. Разработан двухэтапный алгоритм дифференциальной диагностики КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, включающий исследование клеща-переносчика или крови пострадавшего (в случае невозможности исследования клеща) и постановку диагноза пациенту после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей.

11. На основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма дифференциальной диагностики усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, рекомендовано обеспечить ведение целенаправленного эпидемиологического и микробиологического мониторингов за КЭ, БЛ и новыми для РФ инфекционными заболеваниями – боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Для исследования иксодовых клещей из природы или снятых с людей рекомендуется использовать метод ПЦР в режиме реального времени, как метод, обладающий наибольшей чувствительностью и специфичностью для выявления

патогенных для человека возбудителей КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Учитывая широкое распространение сочетанных природных очагов трансмиссивных клещевых инфекций рекомендовано проводить ПЦР-исследование как минимум на наличие возбудителей КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ в пределах ареала клещей рода *Ixodes* (основные переносчики – клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus*).

У лиц, проживающих на территориях эндемичных по КЭ, дифференциальная диагностика лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический период активности клещей должна проводиться не только с БЛ (эритемная и безэритемная формы), но и новыми инфекциями – боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Для верификации КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ рекомендуется использовать молекулярно-генетические методы исследования в комплексе с серологическими методами в первые дни пребывания пациента в стационаре в период «серологического окна», а также у серонегативных больных.

Для обоснования окончательного диагноза «Боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*» рекомендуется использовать методы специфической лабораторной диагностики, такие как ПЦР в режиме реального времени для выявления ДНК возбудителя в крови, метод планарного белкового биочипа со второй недели заболевания с определением специфических IgM и IgG к glpQ антигену, а также к Vmp антигенам *B. miyamotoi*.

При подтверждении клинического диагноза «Клещевой энцефалит» у вакцинированных пациентов против КЭ необходимо учитывать три типа динамики гуморального иммунитета (по IgG): сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика антител. При стабильных титрах антител рекомендуется определение IgM, антигена вируса КЭ или вирусной РНК в СМЖ, а также проведение изоляции вируса в лабораторных условиях с последующим его генотипированием.

При назначении экстренной профилактики (антибиотикопрофилактики) и в схемах лечения боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* рекомендуется пересмотреть применение антибиотика пенициллинового ряда – ампициллина в сторону антибиотиков тетрациклинового ряда – доксицилина, группы макролидов – азитромицина, цефалоспоринов III поколения – цефтриаксона, т.к. в эксперименте *in vitro* клинические изоляты *B. miyamotoi* проявляют устойчивость к ампициллину и чувствительны к доксицилину, азитромицину и цефтриаксону.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Необходимо проведение регулярного молекулярно-биологического мониторинга циркулирующих на территории РФ возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами (КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ, МЭЧ), с целью определения распространенности клещевых патогенов и оценки активности природных очагов данных инфекций.

2. Полученные данные о доминировании на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ и его этиологической роли в развитии различных клинических форм заболевания, включая очаговые с летальным исходом, требуют дальнейшего

изучения нейровирулентных и нейроинвазивных свойств данного подтипа вируса, а также получение и депонирование в базу данных GenBank полноразмерных последовательностей геномов современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа для сравнения с прототипными штаммами и выявления нуклеотидных замен, ответственных за вирулентность и нейроинвазивность.

3. Для более углубленного изучения причин заболеваемости и летальных исходов среди вакцинированных лиц против КЭ требуется проведение поиска генетических локусов (маркеров), ассоциированных с развитием, тяжестью течения заболевания и исходов.

4. Требуется дальнейшего изучения вопрос соответствия современных природных и вакцинных штаммов вируса КЭ в условиях доминирования сибирского подтипа возбудителя на территории РФ и создание обновляемой панели современных региональных штаммов с высокой вирулентностью при периферическом введении. Такой подход основан на главном критерии – соответствии задачам вакцинопрофилактики КЭ – снижение заболеваемости, в первую очередь, очаговых форм с летальным исходом и инвалидизацией. В число тест-штаммов целесообразно включать современные штаммы сибирского подтипа, заведомо патогенные для человека, т.е. выделенные при очаговых формах КЭ от умерших людей.

5. Необходимо расширенное изучение этиологической роли нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* в структуре трансмиссивных клещевых инфекций в масштабах страны.

6. Требуется дальнейшее изучение этиологической роли возбудителей МЭЧ и ГАЧ в развитии лихорадочных состояний с целью дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

7. В настоящее время в РФ не существует зарегистрированных специфических серологических тест-систем (например, ИФА) для диагностики боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*. Необходимо создание и внедрение в рутинную практику здравоохранения подобных методик.

8. Фундаментальную роль в профилактике трансмиссивных клещевых инфекций вирусной и бактериальной природы играет специфическая профилактика – вакцинопрофилактика. Учитывая практически повсеместное распространение природных очагов боррелиозов на территории РФ необходима разработка вакцины против этой гетерогенной группы заболеваний. Доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на территории нашей страны свидетельствует о необходимости решения вопроса о создании современных вакцин на основе данного подтипа.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Платонов, А.Е. Природно-очаговые инфекции в XXI веке в России / А.Е. Платонов, Л.С. Карань, С.Б. Гаранина, Т.А. Шопенская, **Н.М. Колясникова**, О.В. Платонова, М.В. Федорова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2009. – № 2. – С. 38-44. (ВАК)
2. **Колясникова, Н.М.** Структура современных популяций вируса клещевого энцефалита / Н.М. Колясникова, Л.С. Карань, В.В. Погодина, Л.С. Левина, М.В. Лесникова, А.С. Килячина // Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов научно-исследовательских учреждений

- Роспотребнадзора «Биологическая безопасность в современном мире», 21-22 апреля 2009. – Оболенск, 2009. – С. 57-58.
3. Карань, Л.С. Применение молекулярных методов в изучении распространенности возбудителей клещевых инфекций в сочетанных очагах / Л.С. Карань, Т.А. Шопенская, **Н.М. Колясникова**, Е.Г. Гамова, Г.В. Маленко, Л.С. Левина, В.В. Погодина, М.В. Лесникова, В.В. Романенко, В.М. Соколов // Инфекционные болезни: материалы I Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням, 30 марта – 1 апреля 2009. – Москва, 2009. – С. 87-88.
 4. **Kolyasnikova, N.M.** Monitoring of tick-borne infection natural foci / N.M. Kolyasnikova, L.S. Karan, V.V. Pogodina, G.V. Malenko, L.S. Levina, M.V. Lesnikova, V.V. Romanenko, V.M. Sokolov // Abstracts of 12th SAC Seminar Combating Global Infections, 21-24 September 2009. – Irkutsk, 2009. – P. 40.
 5. Погодина, В.В. Летальные исходы клещевого энцефалита, вызванного сибирским подтипом возбудителя в европейской части России и на Урале / В.В. Погодина, Л.С. Левина, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова** // Медицинская вирусология: труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. – Москва, 2009. – Т. XXVI. – С. 121-122.
 6. Карань, Л.С. Применение ПЦР в режиме реального времени для диагностики различных клещевых инфекций // Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, Н.А. Махнева, М.Г. Топоркова, М.В. Надеждина, А.Ю. Есаулкова, В.В. Романенко, Е.А. Арумова, А.Е. Платонов, В.В. Малеев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2010. – № 3. – С. 72-77. (**ВАК**)
 7. **Колясникова, Н.М.** Молекулярно-генетические исследования распространенности возбудителей клещевых инфекций среди иксодовых клещей, собранных на различных территориях Российской Федерации // Н.М. Колясникова, М.В. Федорова, С.Г. Герасимов, Р.А. Регембердиева, М.М. Верховина, В.В. Погодина, Н.Ф. Василенко, С.А. Смирнова, Е.П. Сиротина, Н.С. Травина, С.М. Скрынник, Л.С. Карань // Молекулярная диагностика – 2010: сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 24-26 ноября 2010. – Москва, 2010. – Т. II. – С. 232-234.
 8. Платонов, А.Е. Таксономическая позиция и генетическое разнообразие вида боррелий *Borrelia miyamotoi* - возбудителя "нового" иксодового клещевого боррелиоза / А.Е. Платонов, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, О.В. Платонова, М.В. Федорова // Молекулярная диагностика – 2010: сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 24-26 ноября 2010. – Москва, 2010. – Т. II. – С. 250-256.
 9. **Колясникова, Н.М.** Разработка и применение молекулярно-генетических методов исследования в области диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами / Н.М. Колясникова, Л.С. Карань, М.Г. Топоркова, М.А. Махнева, А.Ю. Есаулкова, С.Г. Герасимов, Р.А. Регембердиева, С.М. Скрынник, В.В. Романенко, М.В. Федорова, А.Е. Платонов, В.В. Погодина, О.М. Оленькова, Н.Н. Сбитнева, Я.Б. Бейкин // Сборник научных трудов «Лабораторная диагностика в клинике инфекционной и соматической патологии». – Екатеринбург, 2010. – С. 259-264.
 10. Карань, Л.С. Изучение инфицированности *I. persulcatus* патогенными для человека микроорганизмами в Восточно-Казахстанской области / Л.С. Карань, Р.А. Регембердиева, **Н.М. Колясникова**, М.В. Федорова // Вестник Уральской

- Государственной Медицинской Академии, 4-5 марта 2010. – Екатеринбург, 2010. – № 21. – С. 185-186.
11. **Колясникова, Н.М.** Генодиагностика спектра инфекций, передающихся иксодовыми клещами / Н.М. Колясникова, Н.А. Махнева, М.Г. Топоркова, М.В. Надеждина, А.Ю. Есаулкова, В.В. Романенко, А.Е. Платонов, В.В. Погодина, Л.С. Карань // Вестник Уральской Государственной Медицинской Академии, 4-5 марта 2010. – Екатеринбург, 2010. – № 21. – С. 187-188.
 12. Топоркова, М.Г. Клинико-этиологические особенности острого периода иксодового клещевого боррелиоза / М.Г. Топоркова, Н.А. Махнева, М.В. Надеждина, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, А.Е. Платонов, М.В. Митяшина // Вестник Уральской Государственной Медицинской Академии, Екатеринбург, 4-5 марта 2010. – Екатеринбург, 2010. – № 21. – С. 204-205.
 13. Karan, L.S. The prevalence of tick-borne pathogens in the Ixodes persulcatus vector from three disparate russian regions // L.S. Karan, **N.M. Kolyasnikova**, T.A. Shopenskaya, M.V. Fedorova, V.V. Pogodina, A.E. Platonov // Abstracts of 12th International conference on Lyme borreliosis and other tick-borne diseases, 26-29 September 2010. – Ljubljana, Slovenia, 2010. – P. 96.
 14. Platonov, A.E. A new human infection caused by a relapsing fever Borrelia (*Borrelia miyamotoi*) transmitted by Ixodes ticks // A.E. Platonov, L.S. Karan, **N.M. Kolyasnikova**, N.A. Makhneva, M.G. Toporkova, V.V. Maleev, D. Fish, P.J. Krause // Abstracts of 12th International conference on Lyme borreliosis and other tick-borne diseases, 26-29 September 2010. – Ljubljana, Slovenia, 2010. – P. 97-98.
 15. Pogodina, V.V. The battle for the Urals 1938-2010: Siberian genotype of tick-borne encephalitis virus (TBEV) displaces the Far Eastern genotype throughout most of Russia / V.V. Pogodina, L.S. Karan, L.S. Levina, **N.M. Kolyasnikova**, G.V. Malenko, N.G. Bochkova, A.E. Platonov // Abstracts of 12th International conference on Lyme borreliosis and other tick-borne diseases, 26-29 September 2010. – Ljubljana, Slovenia, 2010. – P. 27-28.
 16. Platonov, A.E. Human infection with the relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* / A.E. Platonov, L.S. Karan, **N.M. Kolyasnikova**, N.A. Makhneva, M.G. Toporkova, V.V. Maleev, D. Fish, P.J. Krause // Abstracts of 49th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America, 20-23 October 2011. – Boston, 2011. – P. 46.
 17. Platonov, A.E. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* / A.E. Platonov, L.S. Karan, **N.M. Kolyasnikova**, N.A. Makhneva, M.G. Toporkova, V.V. Maleev, D. Fish, P.J. Krause // Emerging Infectious Diseases. – 2011. – V. 17, № 10. – P. 1816-1822. **(WoS)**
 18. Погодина, В.В. 75-летие открытия вируса клещевого энцефалита. Сравнение ранних изолятов (1937-1945) и современных штаммов возбудителя // В.В. Погодина, Л.С. Карань, Л.С. Левина, **Н.М. Колясникова**, С.Г. Герасимов, Г.В. Маленко // Вопросы вирусологии. – 2012. – № S1. – С. 66-75. **(ВАК)**
 19. Погодина, В.В. К проблеме генетического несоответствия вакцинных штаммов и природных вариантов вируса клещевого энцефалита: практические аспекты / В.В. Погодина, С.Г. Герасимов, Л.С. Левина, Г.В. Маленко, **Н.М. Колясникова** // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1-2. – С. 181.
 20. Любезнова, О.Н. Зараженность иксодовых клещей возбудителями различных инфекций в Кировской области / О.Н. Любезнова, Л.С. Карань, **Н.М.**

- Колясникова, К.А.** Гриднева // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10, № S1. – С. 229.
21. Погодина, В.В. Клещевой энцефалит с молниеносным течением и летальным исходом у многократно вакцинированного пациента / В.В. Погодина, Л.С. Левина, С.М. Скрынник, Н.С. Травина, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, В.Я. Кармышева, С.Г. Герасимов, Г.В. Маленко, Л.В. Перминов, М.А. Попов, Н.Г. Бочкова // Вопросы вирусологии. – 2013. – Т. 58, № 2. – С. 33-37. **(ВАК)**
 22. **Колясникова, Н.М.** Социально-экономическое бремя клещевого энцефалита в Российской Федерации / Н.М. Колясникова, Н.А. Авксентьева, Е.В. Деркач, М.В. Авксентьева, А.Е. Платонов // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2013. – № 3. – С. 56-69.
 23. Титков, А.В. Климатические и экологические условия в местах заражения человека боррелиями *Borrelia miyamotoi* / А.В. Титков, А.Е. Платонов, Д.С. Сарксян, Н.А. Махнева, О.В. Платонова, **Н.М. Колясникова**, Л.С. Карань, С.А. Барталев // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2013. – № 6. – С. 30-33. **(ВАК)**
 24. Platonov, A.E. Ecological and climatic conditions matched with human cases of *Borrelia miyamotoi* infection in Russia / A.E. Platonov, S.A. Bartalev, A.V. Titkov, D.S. Sarksyian, N.A. Makhneva, O.V. Platonova, **N.M. Kolyasnikova**, L.S. Karan, D. Fish, E.A. Loupian // Abstracts of 13th International Conference on Lyme Borreliosis and other Tick-Borne Diseases, 17-21 August 2013. – Boston, 2013. – P. 71.
 25. Karan, L.S. Detection of *Borrelia miyamotoi* in Ixodes ticks and small mammals in Russia / L.S. Karan, **N.M. Kolyasnikova**, K.A. Gridneva, D.S. Sarksyian, M.V. Fedorova // Abstracts of 13th International Conference on Lyme Borreliosis and other Tick-Borne Diseases, 17-21 August 2013. – Boston, 2013. – P. 89.
 26. Гриднева, К.А. Анализ связи заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) в России с климатическими и экологическими факторами / К.А. Гриднева, В.А. Долгин, **Н.М. Колясникова**, О.В. Платонова, А.В. Титков, А.Е. Платонов // Медицинская вирусология. – 2013. – Т. XXVII. – С. 69.
 27. **Колясникова, Н.М.** Исследования в области молекулярной эпидемиологии трансмиссивных клещевых инфекций в России, с особым вниманием к клещевому энцефалиту / Н.М. Колясникова, В.В. Погодина, Л.С. Карань, Л.С. Левина, Г.В. Маленко, С.Г. Герасимов, А.Е. Платонов // Медицинская вирусология. – 2013. – Т. XXVII. – С. 59.
 28. **Колясникова, Н.М.** Фундаментальные исследования в области молекулярной эпидемиологии клещевого энцефалита на примере некоторых эндемичных территорий / Н.М. Колясникова, Л.С. Карань, С.Г. Герасимов, М.В. Лесникова, Л.С. Левина, Г.В. Маленко, А.Е. Платонов, В.В. Погодина // Сборник научных трудов к 50-летию ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. – Москва: «Династия», 2014. – С. 112-117.
 29. Карань, Л.С. Что мы знаем о *Borrelia miyamotoi*, потенциальном возбудителе одного из иксодовых клещевых боррелиозов / Л.С. Карань, Д.С. Сарксян, Н.А. Махнева, Т.А. Чеканова, М.Л. Маркелов, **Н.М. Колясникова**, М.В. Федорова, К.А. Гриднева, А.Е. Платонов, Я.Б. Бейкин, Г.А. Шипулин, В.В. Малеев // Сборник

- научных трудов к 50-летию ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. – Москва: «Династия», 2014. – С. 98-103.
30. Платонов, А.Е. Где, когда и как искать клинические формы иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*? Мета-анализ / А.Е. Платонов, Л.С. Карань, Д.С. Сарксян, **Н.М. Колясникова**, Н.А. Махнева, А.В. Титков, Р.Ж. Krause, В.В. Малеев // Сборник научных трудов к 50-летию ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. – Москва: «Династия», 2014. – С. 213-218.
 31. Карань, Л.С. Инфицированность иксодовых клещей и мелких млекопитающих боррелиями различных таксономических групп / Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, К.А. Гриднева, М.В. Федорова, А.Ю. Есаулкова, В.В. Романенко // Молекулярная диагностика – 2014: сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 марта, 2014. – Москва, 2014. – Т. I. – С. 493-494.
 32. Левина, Л.С. Вирусологическая и молекулярно-генетическая диагностика летальных случаев энцефалита на Урале, в Западной Сибири и европейской части России (2001-2013 гг.) / Л.С. Левина, В.В. Погодина, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, В.Я. Кармышева, Г.В. Маленко, Е.Г. Безрукова, С.Г. Герасимов, М.С. Щербинина, Н.Г. Бочкова, С.Е. Соцкова, А.И. Филатова // Молекулярная диагностика – 2014: сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 марта, 2014. – Москва, 2014. – Т. I. – С. 500-501.
 33. Platonov, A.E. The social and economic burden of tick-borne infections in the Russian Federation / A.E. Platonov, N.A. Avxentyev, M.V. Avxentyeva, **N.M. Kolyasnikova**, E.V. Derkach, O.V. Platonova // Abstracts of 14th International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-Borne Diseases, 27-30 September 2015. – Vienna, 2015. – P. 64.
 34. Платонов, А.Е. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации / А.Е. Платонов, Н.А. Авксентьев, М.В. Авксентьева, Е.В. Деркач, О.В. Платонова, А.В. Титков, **Н.М. Колясникова** // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2015. – Т. 8, № 1. – С. 47-56. (ВАК)
 35. Погодина, В.В. Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение I. Вакцинопрофилактика в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, С.Г. Герасимов, **Н.М. Колясникова** // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – Т. 14, № 5. – С. 77-84. (ВАК)
 36. Погодина, В.В. Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение II. Особенности иммунитета в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, С.Г. Герасимов, Л.С. Левина, **Н.М. Колясникова** // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – Т. 14, № 6. – С. 65-73. (ВАК)
 37. Погодина, В.В. Необычный случай летального клещевого энцефалита у пациента, привитого вакцинами разных генотипов (Челябинская область) / В.В. Погодина, С.В. Лучинина, О.Н. Степанова, Е.А. Стенько, А.Н. Горфинкель, В.Я. Кармышева, С.Г. Герасимов, Л.С. Левина, Г.Г. Чиркова, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, Г.В.

- Маленко, Л.И. Колесникова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 56-64. **(ВАК)**
38. Платонов, А.Е. Социально-экономический ущерб от клещевого энцефалита и других трансмиссивных инфекций в Российской Федерации / А.Е. Платонов, **Н.М. Колясникова**, Н.А. Авксентьев, Е.В. Деркач, О.В. Платонова, А.В. Титков, М.В. Авксентьева // Медицинская вирусология. – 2015. – Т. XXIX. – С. 94.
39. Платонов, А.Е. Новое в изучении «новой» инфекции – иксодового клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi* / А.Е. Платонов, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, О.А. Стуколова, А.С. Долгова, А.В. Титков, О.В. Платонова, А. Wagemakers, J. Koetsveld, S. Jahfari, H. Sprong, J.W. Novius, В.В. Малеев // Материалы VIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, 28-30 марта 2016. – Москва, 2016. – С. 230.
40. Платонов, А.Е. Новое в изучении в 2016 г. «новой» инфекции – иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), вызываемого *Borrelia miyamotoi* / А.Е. Платонов, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, О.А. Стуколова, А.С. Долгова, J. Koetsveld, К.В. Кулешов, А.В. Титков, К.О. Миронов, С.В. Матосова, Г.В. Савинов, Л.С. Карань, М.Л. Маркелов, Г.А. Шипулин // Материалы IX Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, 27-29 марта 2017. – Москва. – 2017. – С. 219.
41. Платонов, А.Е. Клинические проявления иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в контексте иммунного ответа на возбудитель / А.Е. Платонов, М.Г. Топоркова, **Н.М. Колясникова**, О.А. Стуколова, А.С. Долгова, А.В. Бродовикова, Н.А. Махнева, Л.С. Карань, J. Koetsveld, Г.А. Шипулин, В.В. Малеев // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 11. – С. 35-43. **(ВАК)**
42. **Колясникова, Н.М.** Современная диагностика иксодового клещевого боррелиоза / Н.М. Колясникова, Е.В. Тиванова // Лаборатория. – 2017. – № 2. – С. 28.
43. Стуколова, О.А. Разработка и использование планарного белкового биочипа для серологической диагностики клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / О.А. Стуколова, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, J. Koetsveld, Л.С. Карань, А.С. Черкашина, М.Л. Маркелов, А.С. Долгова, J.W. Novius, Г.А. Шипулин, А.Е. Платонов // Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 апреля 2017. – Москва, 2017. – Т. II. – С. 151-152.
44. Кулешов, К.В. Секвенирование хромосом российских изолятов *Borrelia miyamotoi*, возбудителя «нового» иксодового клещевого боррелиоза / К.В. Кулешов, И.А. Гоптарь, М.Л. Маркелов, J. Koetsveld, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, J.W. Novius, Г.А. Шипулин, А.Е. Платонов // Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 апреля 2017. – Москва, 2017. – Т. II. – С. 186-187.
45. Кулешов, К.В. Секвенирование плазмид российских изолятов *Borrelia miyamotoi* на основе технологии NGS с использованием коротких прочтений / К.В. Кулешов, А.Е. Платонов, И.А. Гоптарь, М.Л. Маркелов, J. Koetsveld, **Н.М. Колясникова**,

- Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, J.W. Novius, Г.А. Шипулин // Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 апреля 2017. – Москва, 2017. – Т. II. – С. 187.
46. **Колясникова, Н.М.** Клинический обзор острого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Н.М. Колясникова, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, Л.С. Карань, А.Е. Платонов // Медицинская вирусология. – 2017. – Т. XXXI. – С. 28.
 47. Платонов, А.Е. Роль лабораторных методов в доказательстве этиологии и изучении распространенности «нового» инфекционного заболевания – иксодового клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi* / А.Е. Платонов, Л.С. Карань, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, О.А. Стуколова, А.С. Долгова, Я.Е. Григорьева, К.В. Кулешов, А.В. Титков, К.О. Миронов, С.В. Матосова, Г.В. Савинов, J. Koetsveld, О.В. Платонова, Н.А. Махнева, Я.Б. Бейкин, Н.Н. Сбитнева, Ж.В. Афсари, И.И. Дьяченко, Л.В. Марженкова, М.Л. Маркелов, Г.А. Шипулин, В.В. Малеев // Молекулярная диагностика – 2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 18-20 апреля 2017. – Москва, 2017. – Т. II. – С. 318-320.
 48. Yakimenko, V.V. Experimental infection of voles from nature with *Borrelia miyamotoi* / V.V. Yakimenko, A.E. Platonov, **N.M. Kolyasnikova**, K.O. Mironov, A.V. Titkov, S.A. Rudakova, J. Koetsveld, J.W. Novius, G.A. Shipulin // International Symposium on tick-borne pathogens, 24-26 September 2017. – Vienna, 2017 – P. 19.
 49. Koetsveld, J. Development and optimization of an in vitro cultivation protocol allows for isolation of *Borrelia miyamotoi* from patients with hard tick-borne relapsing fever / J. Koetsveld, **N.M. Kolyasnikova**, A. Wagemakers, M.G. Toporkova, D.S. Sarksyian, A. Oei, A.E. Platonov, J.W. Novius // Clinical Microbiology and Infection. – 2017. – V. 23, № 7. – P. 480-484. **(WoS)**
 50. Платонов, А.Е. Микробиологическое подтверждение этиологии иксодового клещевого боррелиоза в безэритемной форме - инфекции, вызываемой *Borrelia miyamotoi* / А.Е. Платонов, J. Koetsveld, **Н.М. Колясникова**, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, Г.А. Шипулин, J.W. Novius // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – Т. 16, № 1. – P. 29-35. **(BAK)**
 51. Kuleshov, K.V. Whole-Genome Sequencing of Six *Borrelia miyamotoi* Clinical Strains Isolated in Russia / K.V. Kuleshov, J. Koetsveld, I.A. Goptar, M. Markelov, **N.M. Kolyasnikova**, D.S. Sarksyian, M.G. Toporkova, N.P. Kirdyashkina, G.A. Shipulin, J.W. Novius, A.E. Platonov // Genome Announcements. – 2018. – V. 6. – № 1. – P. e01424-17. **(Scopus)**
 52. Koetsveld, J. Serodiagnosis of *Borrelia miyamotoi* disease by measuring antibodies against GlpQ and variable major proteins / J. Koetsveld, **N.M. Kolyasnikova**, A. Wagemakers, O.A. Stukolova, D. Hoornstra, D.S. Sarksyian, M.G. Toporkova, A.J. Henningson, D. Hvidsten, W. Ang, R. Dessau, A.E. Platonov, J.W. Novius // Clinical Microbiology and Infection. – 2018. – V. 24, № 12. – P. 1338e1-1338e7. **(WoS)**
 53. Karan, L. Dynamics of spirochetemia and early PCR detection of *Borrelia miyamotoi* / L. Karan, M. Makenov, **N. Kolyasnikova**, O. Stukolova, M. Toporkova, O. Olenkova // Emerging Infectious Diseases. – 2018. – V. 24, № 5. – P. 860-867. **(WoS)**

54. **Колясникова, Н.М.** Эпидемиологические и клинические аспекты безэритемных форм иксодовых клещевых боррелиозов в России / Н.М. Колясникова, Д.С. Сарксян, М.Г. Топоркова, О.А. Стуколова, Л.С. Карань, А.Е. Платонов // Журнал МедиАль. – 2018. – № 2. – С. 59-60.
55. Погодина, В.В. Характеристика случаев клещевого энцефалита у вакцинированных / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, **Н.М. Колясникова**, С.Г. Герасимов, Т.В. Слёзкина, Ж.П. Санчес-Пиментель, А.А. Ишмухаметов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2019. – Т.18, № 6. – С.90-97. **(ВАК)**
56. **Колясникова, Н.М.** Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины / Н.М. Колясникова, С.Г. Герасимов, А.А. Ишмухаметов, В.В. Погодина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Том 19, № 3. – С. 78-88. **(ВАК)**
57. Погодина, В.В. Особенности клещевого энцефалита у вакцинированных пациентов, критерии специфической лабораторной диагностики / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, В.А. Семенов, Н.Г. Бочкова, А.А. Ишмухаметов, В.В. Малеев, С.Г. Герасимов, **Н.М. Колясникова** // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18, № 4. – С. 94-104. **(ВАК)**
58. Koetsveld, J. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Borrelia miyamotoi* // J. Koetsveld, A. Manger, D. Hoornstra, R.O. Draga, A. Oei, A. Wagemakers, J.W. Novius, **N.M. Kolyasnikova**, A.E. Platonov, M.G. Toporkova, D.S. Sarksyian // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2018. – V. 62, №7. – P. e00419-18. **(WoS)**
59. Миронов, К.О. Разработка и практическое применение методики для идентификации поверхностных антигенов *Borrelia miyamotoi* / К.О. Миронов, А.В. Титков, К.В. Кулешов, **Н.М. Колясникова**, Е.И. Бондаренко, А.Е. Платонов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2021. – Т. 98, № 3. – С. 339-350. **(ВАК)**
60. **Колясникова, Н.М.** Лабораторная диагностика клещевого энцефалита у вакцинированных пациентов / Н.М. Колясникова, М.С. Щербинина, В.А. Семенов, Н.Г. Бочкова, С.Г. Герасимов, В.В. Погодина // Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию академика И.Н. Блохиной, 26-27 апреля 2021. – Нижний Новгород, 2021. – С. 275-280.
61. **Колясникова, Н.М.** Совершенствование лабораторной диагностики трансмиссивных клещевых инфекций на эндемичной территории (по материалам Свердловской области) / Н.М. Колясникова, М.Г. Топоркова, Л.С. Карань, О.А. Стуколова, И.Г. Стародубова, Т.А. Чеканова, А.А. Тихомирова, Е.А. Кузнецова, А.Е. Платонов // Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора, 15-17 сентября 2021. – Екатеринбург, 2021. – С. 266-269.
62. Погодина, В.В. Сибирский субтип вируса клещевого энцефалита / В.В. Погодина, **Н.М. Колясникова**, Л.С. Карань, С.Г. Герасимов, Ж.П. Санчес-Пиментель, Е.Г.

- Демьяновская, А.А. Ишмухаметов // В кн.: Клещевой энцефалит в XXI веке / Под ред. академика РАН В.И. Злобина. – М.: Наука, 2021. – С. 138-152.
63. **Колясникова, Н.М.** Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины / Н.М. Колясникова, С.Г. Герасимов, А.А. Ишмухаметов, В.В. Погодина // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 16-30.
64. Погодина, В.В. История открытия и изучения сибирского субтипа вируса клещевого энцефалита / В.В. Погодина, **Н.М. Колясникова**, Л.С. Карань, С.Г. Герасимов, Ж.П. Санчес-Пиментель, Е.Г. Демьяновская, А.А. Ишмухаметов // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 45-59.
65. **Колясникова, Н.М.** Феномен смены подтипов вируса клещевого энцефалита в природе и эксперименте / Н.М. Колясникова, С.Г. Герасимов, Л.С. Карань, В.В. Погодина / В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 60-73.
66. **Колясникова, Н.М.** Сибирский подтип клещевого энцефалита: летальные исходы / Н.М. Колясникова, Л.С. Карань, В.В. Погодина // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 229-236.
67. **Колясникова, Н.М.** К вопросу о смешанных клещевых инфекциях на современном этапе / Н.М. Колясникова, Г.В. Маленко, М.С. Щербинина, В.В. Погодина // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 259-267.
68. Погодина, В.В. Профилактика клещевого энцефалита: исторические и современные аспекты / В.В. Погодина, **Н.М. Колясникова** // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 268-277.
69. Погодина, В.В. Защитный титр антител при клещевом энцефалите в отношении сибирского и дальневосточного подтипов вируса / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, **Н.М. Колясникова** // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 286-290.
70. Погодина, В.В. Особенности лабораторной диагностики у вакцинированных пациентов / В.В. Погодина, М.С. Щербинина, В.А. Семенов, Н.Г. Бочкова, А.А. Ишмухаметов, С.Г. Герасимов, **Н.М. Колясникова** // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 291-304.
71. Погодина, В.В. Механизмы сохранения и репродукции вируса клещевого энцефалита в вакцинированном организме по экспериментальным и клинико-

- вирусологическим данным / В.В. Погодина, Л.С. Левина, М.С. Щербинина, Е.Г. Демьяновская, **Н.М. Колясникова** // В кн.: Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) / Под ред. В.В. Погодиной, А.А. Ишмухаметова. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 305-311.
72. **Kolyasnikova, N.M.** Insights from experience in the treatment of tick-borne bacterial coinfections with tick-borne encephalitis (Chapter 4) / N.M. Kolyasnikova, J.P. Sanchez-Pimentel, N.B. Pestov // Annual reports in Medicinal Chemistry (Medicinal chemistry of tick-borne encephalitis / Editor Dmitry I. Osolodkin). – 2022. – P. 157-242.
73. Hoornstra, D. Development and validation of a protein array for detection of antibodies against the tick-borne pathogen *Borrelia miyamotoi* / D. Hoornstra, O.A. Stukolova, L.S. Karan, D.S. Sarksyian, **N.M. Kolyasnikova**, M.L. Markelov, A.S. Cherkashina, A.S. Dolgova, A.E. Sudina, M.I. Sokolova, A.E. Platonov, J.W. Novius // Microbiology spectrum. – 2022. – V. 10, № 6. – P. e0203622. (WoS)
74. **Колясникова, Н.М.** Современное состояние проблемы клещевого энцефалита в России и мире / Н.М. Колясникова, А.А. Ишмухаметов, В.Г. Акимкин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22, № 1. – С. 108-126. (ВАК)
75. **Колясникова, Н.М.** Этиологическая структура и клинико-эпидемиологическая характеристика инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на территории Свердловской области на современном этапе / Н.М. Колясникова, М.Г. Топоркова, Ж.П. Санчес-Пиментель, А.С. Назаренко, О.А. Стуколова, И.Г. Стародубова, Т.А. Чеканова, А.В. Титков, А.А. Тихомирова, Е.А. Кузнецова, Я.Б. Бейкин, Ю.А. Наумов, Н.Б. Пестов, В.А. Мищенко, И.В. Вялых, А.А. Ишмухаметов, В.Г. Акимкин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22, № 1. – С. 58-78. (ВАК)
76. **Колясникова, Н.М.** Эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита в Свердловской области за 20-летний период / Н.М. Колясникова, Л.Г. Чистякова, А.В. Пономарева, А.Е. Платонов, В.В. Романенко, А.А. Ишмухаметов, В.Г. Акимкин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 54-63. (ВАК)
77. **Колясникова, Н.М.** Характеристика эпидемического процесса болезни Лайма на территории Свердловской области за 20-летний период / Н.М. Колясникова, Л.Г. Чистякова, А.В. Пономарева, А.Е. Платонов, В.В. Романенко, Т.А. Чеканова, А.В. Титков, А.А. Ишмухаметов, В.Г. Акимкин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22, № 2. – С. 64-71. (ВАК)