Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научноисследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)

На правах рукописи

ДОМОНОВА ЭЛЬВИРА АЛЕКСЕЕВНА

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ИНФЕКЦИЯМИ Т_ОRCH-ГРУППЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

3.2.2. Эпидемиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант: Акимкин Василий Геннадьевич академик РАН, д.м.н., профессор

ОГЛАВЛЕНИЕ

введение	6
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	28
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ИНФЕКЦИЙ	
ТоRСН-ГРУППЫ	28
1.1. Токсоплазмоз	29
1.2. Краснуха	40
1.3. Цитомегаловирусная инфекция	50
1.4. Инфекции, вызванные Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus	
humanbeta6b	59
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	72
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	72
2.1. Дизайн и материалы исследования	73
2.2. Методы исследования	80
ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ДИНАМИКИ УРОВНЯ И СТРУКТУРЫ	
ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ИНФЕКЦИЯМИ ТоРСН-ГРУППЫ В	
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	92
3.1. Особенности современной эпидемиологической ситуации по	
токсоплазмозу в Российской Федерации	92
3.2. Особенности современной эпидемиологической ситуации по	
краснухе в Российской Федерации	122
3.3. Особенности современной эпидемиологической ситуации по	
цитомегаловирусной инфекции в Российской Федерации	143
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА, ВАЛИДАЦИЯ И АПРОБАЦИЯ МЕТОДИК	
КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ	
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ Torch-	
ГРУППЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ	180

4.1. Разработка методики качественного определения ДНК	
Toxoplasma gondii на основе полимеразной цепной реакции с	
гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в	
режиме реального времени	180
4.2. Разработка методики качественного определения РНК Rubivirus	
rubellae на основе полимеразной цепной реакции с предварительной	
обратной транскрипцией с гибридизационно-флуоресцентной детекцией	
продуктов амплификации в режиме реального времени	195
4.3. Разработка методики качественного и количественного	
определения ДНК Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b на	
основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной	
детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени	210
4.4. Валидация методики количественного определения ДНК	
Cytomegalovirus humanbeta5 на основе полимеразной цепной реакции с	
гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в	
режиме реального времени	230
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИК	
качественного и количественного определения	
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ Torch-	
ГРУППЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И	
АЛГОРИТМОВ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ	239
5.1. Оценка эффективности применения методики качественного	
определения РНК Rubivirus rubellae на основе полимеразной цепной	
реакции с предварительной обратной транскрипцией с гибридизационно-	
флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального	
времени при верификации диагноза В06 Краснуха [немецкая корь]	239
5.2. Возможности интеграции диагностических технологий на основе	
разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций	
ТоRСН-группы	247

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К							
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ Roseolovirus humanbeta6a/b							
В РАЗВИТИИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ И ВРОЖДЕННОЙ							
ПАТОЛОГИИ	267						
6.1. Первые случаи выявления и лабораторного подтверждения							
наследственной передачи хромосомно-интегрированного Roseolovirus							
humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b у детей грудного возраста в							
Российской Федерации	267						
6.2. Разработка способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов							
ногтевых пластин	291						
6.3. Разработка способа выявления и лабораторного подтверждения							
наследуемого хромосомно-интегрируемого Roseolovirus humanbeta6a/b	301						
6.4. Изучение распространенности хромосомно-интегрированных							
Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, передаваемых по							
наследству, в Российской Федерации	310						
ГЛАВА 7. ОПТИМИЗАЦИЯ МОНИТОРИНГА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ							
СТРУКТУРЫ Torch-инфекций на основе применения							
молекулярно-биологических методов с оценкой							
ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ВНЕДРЕНИЯ							
СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ	328						
7.1. Определение и анализ структуры прямых затрат на диагностику							
и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у							
новорожденных в городе Москве	329						
7.2. Экономический расчет прямых медицинских затрат на							
диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у							
новорожденных в условиях стационарного лечения в городе Москве	335						
7.3. Оценка экономической целесообразности внедрения способа							
выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-							
интегрированного вируса герпеса 6а/b у новорожденных в практическое							

здравоохра	анение,	эпидемиол	погический над	цзор за	инфекция	ми Tol	RCH-	
группы в р	егионе							348
ГЛАВА	8.	НАУЧНО	ОБОСНОВА	ННЫЕ	подхо	ОДЫ	ПО	
СОВЕРШІ	ЕНСТВ	ОВАНИЮ	ЭПИДЕМИОЛ	ОГИЧЕС	КОГО НА	ДЗОР	A 3A	
ИНФЕКЦІ	ИМКИ	TORCE	Н-ГРУППЫ	C I	І СПОЛЬЗ	OBAH	ИЕМ	
COBPEME	ЕННЫХ	К ДИАГНО	ОСТИЧЕСКИХ	РЕШЕ	ний на	OCH	IOBE	
МОЛЕКУЛ	ЛЯРНС	-БИОЛОГИ	ІЧЕСКИХ МЕТ	ОДОВ				353
ЗАКЛЮЧ	ЕНИЕ	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •						365
выводы	I	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •						388
ПРАКТИЧ	ЧЕСКІ	ИЕ РЕКОМ	ЕНДАЦИИ					392
ПЕРСПЕ	ктиві	Ы ДАЛЬНЕ	ЙШЕЙ РАЗРА	БОТКИ	ТЕМЫ			393
СПИСОК	СОКР	АЩЕНИЙ						394
СПИСОК	ЛИТЕ	РАТУРЫ .						397
припож	тина	Ī						136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В соответствии с Указом Президента Российской Федерации № 875 от 22.11.2023 2024 год в нашей стране объявлен Годом семьи [1]. В Послании Федеральному Собранию России от 29.02.2024 Глава государства предложил запустить новую комплексную программу по охране материнства, сбережению здоровья детей и подростков, в том числе репродуктивного здоровья, чтобы дети рождались и росли здоровыми, а в будущем и у них были здоровые дети [2].

На современном этапе инфекционная патология является одной из сложных и часто недооцениваемых проблем акушерства и педиатрии — перинатальной патологии, которая характеризуется как существенными пери- и постнатальными потерями, влиянием на показатели младенческой заболеваемости и смертности, так и ранней инвалидизацией, а также снижением качества жизни детей, перенесших тяжелые формы врожденной инфекции. По данным ряда авторов распространенность данной патологии в человеческой популяции может достигать 10% [3,4].

Основная роль в развитии перинатальных инфекций отводится возбудителям обобщенной группы ToRCH-инфекций. Многолетние исследования позволили выделить среди наиболее значимых ToRCH-инфекций токсоплазмоз, краснуху, цитомегаловирусную инфекцию [5,6,7].

В мире около 30% населения инвазировано *Toxoplasma gondii* [8,9,10,11,12]. Уровень инвазированности населения в разных странах варьирует в широких пределах и в большой степени зависит от санитарно-гигиенических условий, особенностей питания [13]. В Российской Федерации инвазировано 32–41,5% населения [14,15]. В зависимости от механизма инвазирования различают приобретенный и врожденный токсоплазмоз. Частота врожденного токсоплазмоза составляет от 0,1 до 0,3 на 1000 детей, рожденных живыми [16,17]. Общее количество детей с врожденным токсоплазмозом, ежегодно рождающихся в мире, превышает 190 000 [6,18], а летальность на первом году жизни достигает 3% [19].

В настоящее время в глобальном масштабе проблема элиминации краснухи остается нерешенной, несмотря на существующие эффективные методы специфической профилактики и приверженность в большинстве стран стратегии массовой вакцинации [20,21]. В 2022 г. в 78 странах мира было зарегистрировано заболевания краснухой [22]. Наиболее неблагополучная случаев эпидемиологическая ситуация по краснухе отмечается в странах Африки, Восточной и Южной Азии [23]. У беременных Rubivirus rubellae, обладая тератогенными свойствами, проникает через плаценту и вызывает эмбрио- и фетопатии, приводящие к патологии развития, смерти плода, самопроизвольному выкидышу (10-40%) или мертворождению (20%), ранней неонатальной смерти (25%) или синдрому врожденной краснухи [24]. При инфицировании в первые 12 недель беременности риск развития синдрома врожденной краснухи достигает 80-90%, затем существенно снижается в период до 20 недели беременности [25]. По оценкам экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире ежегодно регистрируется >100 000 случаев рождения детей с синдромом врожденной краснухи [21], >80% из которых – в Африке и некоторых странах Южной и Юго-Восточной Азии [23]. Установлено, что в условиях эндемичного распространения краснухи ожидаемый показатель синдрома врожденной краснухи составляет 0,1 случаев на 1000 детей, рожденных живыми, а при эпидемии этот показатель находится в диапазоне от 0,5 до 3,5 случаев [26].

Цитомегаловирусная инфекция является одной из ведущих причин мертворождений, самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, [27,28,29]. заболеваемости новорожденных младенческой смертности Врожденная инфекция, вызванная Cytomegalovirus humanbeta5, является наиболее регистрируемой вирусной инфекцией [5]. часто новорожденных Распространенность врожденной цитомегаловирусной инфекции в мире составляет 0.64% развития необратимых при риске негативных последствий инфицированных детей в 17–20% [7]. В развитых странах врожденную

цитомегаловирусную инфекцию отмечают у 0,3-2,4% выживших новорожденных, в том числе в США -0,5-2,0%. При первичной материнской цитомегаловирусной инфекции заражение плода наблюдают в 30-40% случаев [30,31,32].

Согласно представленным данным внутриутробная инфекция, вызванная Roseolovirus humanbeta6a/b (сохраняющееся общее название для двух видов: Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b), в редких случаях приводит к спонтанному аборту, гидроцефальному синдрому, миокардиту, фульминантному гепатиту, поражению ЦНС [33,34,35,36]. Врожденная инфекция, вызванная этими возбудителями, выявляется у 1% новорожденных, и в большинстве случаев протекает бессимптомно [37,38]. По некоторым данным большинство случаев с большей вероятностью связано с наличием у ребенка носительства наследуемого хромосомно-интегрированного вируса [39,40,41]. Вопрос об обоснованности включения инфекций, вызванных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, в группу ТоRCH остается открытым.

В целом, инфекции ToRCH-группы отличают широкая и повсеместная распространенность потенциальных возбудителей среди различных групп населения в популяции, бессимптомное течение заболевания или отсутствие патогномоничных клинических симптомов у иммунокомпетентных лиц, высокий риск развития патологии у плода или новорожденного при первичном инфицировании женщины во время беременности, возможность реактивации при латентной инфекции у беременных с потенциальным риском внутриутробного заражения плода и неблагоприятного исхода беременности (выкидыш, мертворождение, преждевременные роды).

Принимая во внимание широкое распространение и серьезность прогноза, разработка высокоточных методов ранней диагностики, эффективного лечения и профилактики врожденных инфекций является одной из приоритетных [3]. Лабораторная верификация перинатальной инфекционной патологии является ключевым звеном диагностики и во многом определяет дальнейшую тактику ведения пациента, стратегию терапии и благоприятность исхода. При этом однотипность клинических проявлений ТоRCH-инфекций обосновывает

необходимость безотлагательного расшифровки проведения ЭТИОЛОГИИ заболевания. Существующие рутинные методы лабораторной диагностики внутриутробных инфекций, в том числе и инфекций ToRCH-группы, направленные на оценку состояния специфического иммунитета, не позволяют решить поставленной задачи в рамках пренатальной диагностики или диагностики в раннем неонатальном периоде, периоде грудного возраста. Из основных недостатков используемых приемов отмечают невозможность установления факта передачи возбудителя от матери плоду и развития внутриутробной инфекции, в то время как выявление нуклеиновых кислот возбудителей с использованием молекулярно-биологических методов (ПЦР, ОТ-ПЦР) обладают такой возможностью с диагностической чувствительностью, приближающейся к 100%.

Разработка и внедрение научно обоснованных методических подходов к оптимизации лабораторных исследований на основе молекулярно-биологических методов, направленных на качественное и количественное определение нуклеиновых кислот возбудителей ToRCH-инфекций, интеграция существующие алгоритмы диагностики, способствующих повышению качества и эффективности эпидемиологического надзора в Российской Федерации, является значимой и необходимой.

Степень разработанности темы исследования

Изучению особенностей эпидемиологических аспектов, клиниколабораторной ToRCH-инфекций диагностики (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) посвящены работы отечественных ученых: Н. В. Каражас (2002), Е. А. Григорьевой (2003), О. А. Землянского (2004), В. И. Шахгильдяна (2004), Т. И. Долгих (2005), Г. М. Ушаковой (2006), А. В. Калитина (2007), Л. В. Лялиной с соавт. (2009), Н. М. Моковой (2009), Ю. В. Минаковой (2010), А. Ю. Антиповой (2011), И. Н. Лыткиной (2011), В. В. Васильева с соавт. (2013), С. Г. О. Марданлы (2016), Е. Н. Присяжнюк с соавт. (2016), Л. Б. Кистеневой (2017), С. М. Казарян (2020), М. В. Ивановой (2021), А. В. Ноздрачевой (2021) и др.

А также зарубежных авторов: A. Carlson et al. (2010), G. Gerna, F. Robert-Gangneux et al. (2012), F. Kieffer, M. Wallon (2013), C. Dard et al. (2016), L. A. Zimmerman et al. (2020), J. P. Dubey et al. (2021) и др.

Ряд исследователей сходились во мнении о необходимости внедрения в существующие алгоритмы диагностики ToRCH-инфекций современных методов, в частности иммунохимических И молекулярно-биологических, обладающих высокими аналитическими и диагностическими характеристиками. Однако не было предложено и внедрено в практику в Российской Федерации эффективного инструмента – комплекса современных методик, предназначенного качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей ТоRСН-инфекций на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ, позволяющего оптимизировать существующие подходы специфической лабораторной диагностики у пациентов различного возраста, в том числе при проведении пренатальной диагностики, обследовании лиц из групп риска (дети грудного возраста и др.), установлении окончательного диагноза на ранних сроках развития инфекционного процесса и в рамках проведения дифференциальной диагностики.

Исследования, направленные на изучение Roseolovirus humanbeta6a/b и ассоциированных с ним заболеваний, проводились такими российскими и зарубежными авторами, как Е. В. Новосад (2008), М. Ю. Калугина (2009), А. Д. Музыка (2017), М. А. Никольский, (2018), Е. В. Мелехина (2018), В. В. Краснов (2019), О. И. Демина, Т. А. Чеботарева (2020), А. В. Пермякова (2022), М. С. Савенкова (2023), E. B. Мелехина, A. B. Горелов (2023), H. Agut et al. (2015, 2016, 2017), H. Miura et al. (2015, 2018), A. L. Greninger et al. (2018, 2019, 2023), L. Flamand (2018), E. Eliassen et al. (2020), O. King et al. (2021), A. Sultanova et al. (2022), L. Gabrielli et al. (2023), однако до настоящего момента в Российской Федерации представлено недостаточно данных по изучению феномена наследуемой интеграции Roseolovirus humanbeta6a/b, хромосомной распространенности эндогенных вирусов, передаваемых по наследству, их роли в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии, что во многом обусловлено необходимых отсутствием доступных инструментов, ДЛЯ выявления,

лабораторного подтверждения и достоверной интерпретации получаемых результатов. Все вышеизложенное определило цель и задачи диссертационного исследования.

Цель исследования

Совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCHгруппы путем разработки и внедрения комплекса молекулярно-биологических методов диагностики.

Задачи исследования

- 1. Изучить динамику уровня и структуры заболеваемости инфекциями ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации.
- 2. Разработать, валидировать и апробировать комплекс методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей ТоRCH-инфекций на основе ПЦР, ОТ-ПЦР.
- 3. Научно обосновать необходимость внедрения методик на основе ПЦР, ОТ-ПЦР в алгоритмы диагностики инфекций ТоRCH-группы и оценить эффективность их использования.
- 4. Разработать методические подходы к определению этиологической роли *Roseolovirus humanbeta6a/b* в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии.
- 5. Оценить экономическую целесообразность внедрения способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека 6а/b для диагностики инфекций ToRCH-группы у новорожденных.
- 6. Научно обосновать и предложить пути совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с использованием

современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов.

Научная новизна исследования

В результате проведенных исследований получены актуальные научные данные по заболеваемости ведущими инфекциями ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации.

Впервые в Российской Федерации разработан и внедрен в практику комплекс методик для определения ДНК *Toxoplasma gondii*, РНК *Rubivirus rubellae*, ДНК *Cytomegalovirus humanbeta5*, ДНК *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в различных форматах с высокими аналитическими и диагностическими характеристиками, позволяющий оптимизировать лабораторную диагностику инфекций ТоRCH-группы.

Впервые в Российской Федерации предложена методология изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции вируса герпеса человека ба (хиВГЧ-ба) и вируса герпеса человека бb (хиВГЧ-бb), с научно обоснованным применением молекулярно-биологических методов исследования, расширяющая представление о сосуществовании микро- и макроорганизма.

Впервые в Российской Федерации описаны случаи наследуемого хиВГЧ-6астатуса и хиВГЧ-6b-статуса у новорожденных при расшифровке внутрисемейной наследственной передачи эндогенного хромосомно-интегрированного *Roseolovirus* humanbeta6a (в трех поколениях с определением сайта интеграции — 17р хромосома: от отца дочери и внуку) и эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6b* (в двух поколениях: от отца двум детям (девочке и мальчику) из двойни).

Впервые в Российской Федерации предложены научно обоснованные методические подходы к определению этиологической роли *Roseolovirus humanbeta6a/b* в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии,

включающие основные компоненты лабораторной диагностики наследуемого хиВГЧ-6a/b-статуса.

Впервые в Российской Федерации разработан инновационный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека 6а/b (хиВГЧ-6а/b), основанный на количественном определении специфической ДНК вируса в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов обследуемого методом ПЦР-РВ, позволяющий с 99% вероятностью одновременно выявлять хиВГЧ-6а/b, передаваемый по наследству и проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6b-статуса как у детей, так и взрослых. Предложенный подход не требует проведения длительного динамического наблюдения и обследования ближайших родственников.

Впервые в Российской Федерации оценена распространенность хромосомноинтегрированных *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству.

Впервые в Российской Федерации проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов наследуемых хромосомно-интегрированных *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика. Получены данные, необходимые для изучения особенностей популяции, понимания генетического разнообразия и географической стратификации этих вирусов.

Впервые определена экономическая эффективность внедрения лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b при расширенном лабораторном обследовании новорожденных с выявленными маркерами активной ВГЧ-6а/b-инфекции (на примере города Москвы).

Научно обоснован подход по совершенствованию эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с помощью молекулярно-биологических методов, позволяющий повысить результативность мероприятий в части сбора, учета и эпидемиологического анализа данных.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Получены актуальные научные данные о современной эпидемиологической ситуации по основным инфекциям ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации, демонстрирующие необходимость широкого внедрения единых научно-обоснованных критериев стандартного определения случая заболевания повышения качества лабораторной верификации путем применения современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности чувствительности, в том числе молекулярно-биологических методов.

Внедрение представленных решений, а именно комплекса разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых методов способствует масштабированию исследований, проводимых в рамках изучения инфекций ToRCH-группы, феномена наследуемой хромосомной интеграции *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, в том числе определения этиологической роли вирусов в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии.

Разработанные методики приняты за основу при создании наборов реагентов, предназначенных для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей инфекций ToRCH-группы и рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ToRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, патогенных для человека: *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*) на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Наборы реагентов прошли государственную регистрацию в установленном порядке, доступны для широкого использования и в настоящее время применяются в лабораторной практике Российской Федерации и за рубежом.

Внедрение новых диагностических технологий на основе разработанных методик в практическое здравоохранение обеспечивает проведение ранней этиологической диагностики основных инфекционных болезней, специфичных для перинатального периода (инфекции ToRCH-группы: токсоплазмоз, краснуха,

цитомегаловирусная инфекция), на высоком методическом уровне в кратчайшие сроки.

Разработанные правила взятия, транспортировки, хранения образцов ногтевых пластин, для последующей ПЦР-диагностики, могут быть использованы в различных областях: практической медицине (клинико-лабораторная диагностика, медицинская генетика), криминалистической, судебно-медицинской практике и др.

Разработанный способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин позволяет получить препарат ДНК/РНК, имеющий высокую степень химической очистки и концентрацию, пригодную для проведения исследований с применением молекулярно-биологических методов, в том числе ПЦР-РВ при подтверждении наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациентов.

Разработанный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b в настоящее время является для практического здравоохранения единственным доступным способом, позволяющим не только выявить хиВГЧ-6а/b, передаваемый по наследству, но и одновременно проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6b-статуса как у детей, так и взрослых, без выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников.

Внедрение в практику здравоохранения города Москвы инновационного способа, основанного на количественном определении ДНК *Roseolovirus humanbeta6a/b* в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ, позволит сократить затраты на лечебно-диагностические мероприятия и оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе.

Оптимизация методов мониторинга за инфекциями ToRCH-группы путем разработки и использования комплекса молекулярно-биологических методов исследования обеспечила усовершенствование информационного обеспечения системы эпидемиологического надзора за этими инфекциями.

Методология и методы исследования

Исследование многолетний, носило комплексный характер. Методологическая основа диссертационной работы построена в соответствии с поставленной целью и задачами исследования. Использованы: общенаучные подходы, специальные методы классической эпидемиологии (описательный и аналитический); лабораторные методы исследования (молекулярнобиологический, иммунохимический, вирусологический), биоинформатический метод, методы экспертных оценок, экономического анализа и статистический. Данные проанализированы, систематизированы и представлены в главах, посвященных собственным исследованиям. На основе полученных результатов сформулированы выводы, даны практические рекомендации.

Положения, выносимыее на защиту

- 1. Современная эпидемиологическая ситуация по ведущим инфекциям ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) характеризуется общей тенденцией к снижению уровней заболеваемости при сохранении высокой социально-экономической значимости этих инфекций. Наиболее благоприятная эпидемиологическая ситуация отмечается по краснухе, что обусловлено реализацией масштабной программы элиминации краснухи и предупреждения синдрома врожденной краснухи, включающей мероприятия по проведению специфической вакцинопрофилактики. Выявлено неравномерное распределение заболеваемости инфекциями ToRCH-группы на территории Федерации. Российской Показано, что детей возрасте года заболеваемости среднемноголетний показатель токсоплазмозом И цитомегаловирусной болезнью превышал аналогичные параметры детей других возрастных групп в 4,53-7,17 раз и 2,70-28,07 раз соответственно (p<0,0001).
- 2. Разработаны, валидированы и апробированы методики качественного, качественного и количественного определения нуклеиновых кислот основных

возбудителей инфекций ТоRCH-группы (ДНК *Toxoplasma gondii*, РНК *Rubivirus rubellae*, ДНК *Cytomegalovirus humanbeta5*) и рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ТоRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, патогенных для человека: *Roseolovirus humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*), обладающие высокими показателями аналитической и диагностической чувствительности и специфичности, доступные для применения при лабораторной диагностике краснухи, токсоплазмоза, цитомегаловирусной инфекции, инфекции, вызванной ВГЧ-6а/b у пациентов различного возраста, в том числе при установлении окончательного диагноза, проведении дифференциальной диагностики.

- 3. Специфическая лабораторная диагностика инфекций ToRCH-группы должна основываться на комплексном применении современных молекулярно-биологических и иммунохимических методов исследования. Внедрение комплекса методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в алгоритмы диагностики инфекций ToRCH-группы обеспечивает высокий уровень достоверности получаемых результатов лабораторного исследования и их прогностическую ценность.
- 4. Комплекс разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых методов способствует масштабированию исследований, проводимых рамках изучения наследуемой хромосомной интеграции R.humanbeta6b, B Roseolovirus humanbeta6a и TOM числе определения этиологической роли вирусов в развитии внутриутробных инфекций и врожденной патологии, изучения особенностей популяции эндогенных форм Roseolovirus humanbeta6a и R.humanbeta6b, передаваемых по наследству, качественно повышая эффективность лабораторной диагностики ВГЧ-6а/b-инфекции и сокращая продолжительность диагностического поиска.
- 5. Гипердиагностика внутриутробных инфекций, вызываемых вирусом герпеса человека 6а/b у новорожденных с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса, несет неоправданное экономическое бремя для системы здравоохранения и общества. Внедрение в практику здравоохранения города Москвы инновационного способа, основанного на количественном

определении ДНК Roseolovirus humanbeta6a/b в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ, позволит сократить затраты на лечебно-диагностические мероприятия и оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе.

6. На основе внедрения алгоритма дифференциальной диагностики с использованием молекулярно-биологических методов усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы.

Личное участие автора в получении результатов

Автором лично определена методология исследования, проведено формулирование цели, задач настоящей работы, осуществлено планирование и организация всех этапов исследования, проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы, нормативных документов по теме изыскания, а также лично или при его непосредственном участии выполнены эпидемиологические, вирусологические, молекулярно-биологические, иммунохимические исследования, биоинформатический, экономический и статистический анализ.

Автором лично осуществлена организация сбора биологического материала, проведена обработка экспериментальных данных, систематизация, комплексный анализ и обобщение полученных результатов проведенных исследований, их обсуждение и внедрение в практику, сформулированы основные положения диссертационного исследования, выводы, практические рекомендации и определены перспективные направления дальнейших исследований.

Вклад автора в разработку и апробацию методик качественного определения ДНК *Toxoplasma gondii*, РНК *Rubivirus rubellae* в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ; разработку лабораторного способа выявления и подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b у детей и взрослых; изучение распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных

Roseolovirus humanbeta6a и R.humanbeta6b в Российской Федерации; создание онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b»; подготовку материала, вошедшего в заявки на патенты Российской Федерации на изобретение, создание баз данных; публикации результатов, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования, является определяющим.

Внедрение результатов исследования

Результаты научной деятельности реализованы в разработке и создании методических рекомендаций, 2 патентов Российской Федерации, международной заявки, опубликованной в соответствии с договором о патентной кооперации (РСТ), 5 баз данных, 4 программ для ЭВМ, научно-технической документации 5 регистрационных досье медицинских изделий.

Подготовлены методические рекомендации:

Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: Методические рекомендации / Э. А. Домонова, М. Г. Творогова, А. Т. Подколзин [и др.]; Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии». — Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021. — 112 с. — ISBN 978-5-6045286-6-2. — DOI https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-6-2.

Получены патенты Российской Федерации:

1. Патент № 2739997 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/58, C12Q 1/686. Способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6А/В: № 2020120283: заявл. 18.06.2020: опубл. 30.12.2020 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной

службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

2. Патент № 2751244 С1 Российская Федерация, МПК С12N 15/10, С12Q 1/68. Способ экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин: № 2020132246: заявл. 30.09.2020: опубл. 12.07.2021 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Получена международная публикация (международная заявка, опубликованная в соответствии с договором о патентной кооперации (PCT)):

WO 2022/071833 A1. Домонова Э. А., Сильвейстрова О. Ю., Шипулина О. Ю. нуклеиновых пластин. ногтевых экстракции кислот ИЗ международной публикации: WO 2022/071833 A1. Дата международной публикации: 07 2022 (07.04.2022).Всемирная апреля Организация Интеллектуальной Собственности, Международное бюро. Международная патентная классификация: C12N 15/10 (2006.01), C12Q 1/68 (2018.01). Номер международной заявки: PCT/RU2021/050381. Дата международной подачи: 17 ноября 2021 (17.11.2021). Язык подачи: Русский. Язык публикации: Русский. Данные о приоритете: 2020132246 30 сентября 2020 (30.09.2020) RU.

Получены свидетельства о государственной регистрации базы данных:

- 1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2020622759 Российская Федерация. База данных «Распространенность наследуемого хромосомно-интегрированного *Human betaherpesvirus* 6A/B»: № 2020622680: заявл. 16.12.2020: опубл. 22.12.2020 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, К. В. Кулешов, А. П. Чупалов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).
- 2. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620015 Российская Федерация. Расшифровка случаев внутрисемейной наследственной

передачи хромосомно-интегрированных *Human betaherpesvirus* 6A и *Human betaherpesvirus* 6B: № 2020622767: заявл. 25.12.2020: опубл. 12.01.2021 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, К. В. Кулешов, А. П. Чупалов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).

- 3. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622600 Российская Федерация. Анализ и экономический расчет прямых затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в Московском регионе: № 2021622510: заявл. 16.11.2021: опубл. 23.11.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, Е. В. Мелехина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 4. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622858 Российская Федерация. Анализ экономической значимости лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6А/В у новорожденных в Московском регионе: № 2021622804: заявл. 03.12.2021: опубл. 09.12.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, Е. В. Мелехина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 5. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620002 Российская Федерация. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: № 2021623223: заявл. 22.12.2021: опубл. 10.01.2022 / Э. А. Домонова, М. Г. Творогова, А. Т. Подколзин [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Получены свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ:

- 1. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021660924 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных *Human betaherpesvirus* 6A и *Human betaherpesvirus* 6B в мире: № 2021660161: заявл. 30.06.2021: опубл. 05.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661481 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6В в Российской Федерации: № 2021660144: заявл. 30.06.2021: опубл. 12.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 3. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021667325 Российская Федерация. Анализ и экономический расчет затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций у новорожденных: № 2021666825: заявл. 26.10.2021: опубл. 27.10.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, В. Г. Акимкин [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 4. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022661706 Российская Федерация. Взятие, транспортировка, хранение ПЦР-диагностики: биологического материала для $N_{\underline{0}}$ 2022661251: заявл. 21.06.2022: опубл. 24.06.2022 / Э. А. Домонова, В. Г. Акимкин, М. Б. Глазов [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-

исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Получены регистрационные удостоверения на медицинское изделие:

- 1. Регистрационное удостоверение на набор реагентов для выявления ДНК *Toxoplasma gondii* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Toxoplasma gondii*-FL» по ТУ 9398-081-01897593-2009 № ФСР 2009/06190 от 05 марта 2019 года.
- 2. Регистрационное удостоверение на набор реагентов для выявления РНК вируса краснухи (*Rubella virus*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Rubella virus*-FL» по ТУ 9398-090-01897593-2009 № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года.
- 3. Регистрационное удостоверение на набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса 6 типа (ННV6) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационнофлуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ННV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 получено РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года.
- 4. Регистрационное удостоверение на набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК цитомегаловируса человека (СМV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® СМV-скрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года.
- 5. Регистрационное удостоверение на комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» № ФСР 2008/03147 от 24 мая 2024 года.

Результаты работы используются в лекционном материале сертификационного курса усовершенствования «ПЦР-диагностика инфекционных заболеваний», проводимого на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

О достоверности полученных результатов исследования свидетельствует дизайн исследования, соответствующий поставленным цели и задачам, репрезентативный объем проанализированных данных и их адекватный статистический анализ.

Материалы исследования представлены, доложены и обсуждены на более чем 50 конгрессах, научно-практических конференциях, съездах, научных форумах, научно-практических семинарах, в том числе за рубежом – на 7:

– III Российской научной конференции с международным участием «Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера» (Новосибирск, 27–29 сентября 2006 года); Ежегодном конгрессе специалистов перинатальной медицины «Новые технологии в перинатологии» (Москва, 21–22 ноября 2006 года); IX съезде Всероссийского научнопрактического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Итоги и обеспечения эпидемиологического благополучия перспективы населения Российской Федерации» (Москва, 18-19 апреля 2007 года); VI Всероссийской научно-практической конференции «Генодиагностика инфекционных болезней – 2007» («Молекулярная диагностика – 2007») (Москва, 28–30 ноября 2007 года); II, IV Региональных научных форумах «Мать и дитя» (Сочи, 28–30 апреля 2008 года; Екатеринбург, 28–30 июня 2010 года); VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2010» (Москва, 24–26 ноября 2010 года); III–VI, IX–XIII Ежегодных Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 28– 30 марта 2011 года; Москва, 26–28 марта 2012 года; Москва, 25–27 марта 2013 года; Москва, 24–26 марта 2014 года; Москва, 27–29 марта 2017 года; Москва, 26–28 февраля 2018 года; Москва, 1–3 апреля 2019 года; Москва, 7–9 сентября 2020 года (интернет-конгресс); Москва, 24–26 мая 2021 года); І Международном Конгрессе по перинатальной медицине, посвященном 85-летию академика РАМН В.А. Таболина и VI Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины (Москва, 16–18 июня 2011 года); XIV, VIII, XX Всероссийских научных форумах «Мать и дитя» (Москва, 24–27 сентября 2013 года; Москва, 27–29 сентября 2017 года; Москва, 25–27 сентября 2019 года); VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2014» (Москва, 18–20 марта 2014 года); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2017» (Москва, 18-20 апреля 2017 года); ХХ Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2021» (Москва, 9–11 ноября 2021 года); XII Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии, качество» (Москва, 24–25 сентября 2017 года); III, IV Московских городских съездах педиатров «Трудный диагноз» в педиатрии», «Мультидисциплинарный подход. От простого к сложному» (Москва, 4–6 октября 2017 года; Москва, 17–19 октября 2018 года); XVI, XVII Конгрессах детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (Москва, 13–15 декабря 2017 года; Москва, 12–14 декабря 2018 года); IV, V Российских Конгрессах лабораторной медицины (Москва, 3–5 октября 2018 года; Москва, 11-13 сентября 2019 года); Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 11–12 октября 2018 года); VIII Междисциплинарном научнопрактическом конгрессе с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движения у детей» (Москва, 1–2 ноября 2018 года); Втором Национальном Междисциплинарном Конгрессе с международным участием «Физическая и реабилитационная медицина в педиатрии: традиции и инновации» (Москва, 21–22 марта 2019 года); V, IX Межведомственной научнопрактической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, лечение и профилактика» (Москва, 16–17 мая 2019 года; Москва, 30–31 мая 2023 Всероссийской научно-практической интернет-конференции года); международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020» (Москва, 6-8 октября 2020 года); Конгрессе с международным участием

«Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2022» (Москва, 27–28 апреля 2022 года) и «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2024» (Москва, 16– 17 апреля 2024 года); III, IV Национальных Конгрессах с международным участием «ЛАБРиН 2021» и «ЛАБРиН 2022» (Москва, 31 марта–2 апреля 2021 года; Москва, 28-30 сентября 2022 года); научно-практических семинарах ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Диагностика и лечение урогенитальных и внутриутробных инфекций: выбор оптимального и клинически обоснованного алгоритма» (Москва, 11–12 ноября 2020 года), «Определение роли врожденных инфекций в патологии беременности и состояния здоровья новорожденных ВИЧинфицированных матерей» (Екатеринбург, 27 мая 2022 года), «Герпес-вирусные инфекции: диагностика и лечение» (Москва, 20 сентября 2022 года); II интернетконференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 1–3 ноября 2022 года); III, IV Ежегодных конференциях по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва, 30–31 октября 2023 года; Москва, 1–2 ноября 2024 года); II Всероссийском Конгрессе с международным участием «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения – 2023» (Москва, 30 мая–1 июня 2023 года); Международной онлайн-конференции «Инфекционные болезни у лиц со сниженным иммунитетом: диагностика, клиника, лечение» (Москва, 20 марта 2024 года);

— Международной научно-практической конференции «Геномные технологии в медицине и медицинское образование на рубеже веков» (Республика Казахстан, Алматы, 19–20 мая 2006 года); Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика инфекционных болезней» (Республика Беларусь, Минск, 17–18 мая 2007 года); Международном Евро-Азиатском конгрессе по инфекционным болезням (Республика Беларусь, Витебск, 5–6 июня 2008 года); Еигореап Congress of Immunology (Glasgow, Scotland, 5–8 September, 2012); Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2018» (Республика Беларусь, Минск, 27–28 сентября 2018 года); World Congress on Clinical Pediatrics and Pediatric Oncology & Care (Lisbon, Portugal, 5–7

November, 2018); 11th International Conference on HHV-6 & 7 (Quebec, Canada, 23–26 June, 2019).

Диссертационная работа представлена и рекомендована к защите на заседании Апробационного совета Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 02 июля 2024 года, протокол № 85.

Соответствие работы паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.2.2. Эпидемиология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 2, 4 и 5 паспорта специальности 3.2.2. Эпидемиология.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 85 научных работ, в том числе 13 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа содержит введение, восемь глав (обзор литературы; глава, описывающая материалы и методы исследования; шесть глав собственных исследований), заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы, приложения. Объем работы — 505 страниц. Диссертация иллюстрирована 94 таблицами, 91 рисунком. Список литературы содержит 303 источника, в том числе 105 — на русском языке и 198 — на английском языке.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ИНФЕКЦИЙ Torch-группы

Возбудителям обобщенной группы ToRCH-инфекций отводится основная роль в развитии перинатальных инфекций. Термин ToRCH-инфекции впервые предложен Andre J. Nahmias с соавт. в 1971 г. [42]. В основе аббревиатуры лежат первые буквы латинских названий основных врожденных инфекций: «Т» – (возбудитель **Toxoplasmosis** токсоплазмоз паразитическое простейшее Toxoplasma gondii); «R» – Rubella – краснуха (возбудитель вирус Rubivirus rubellae); «С» – Cytomegalia – ЦМВИ (возбудитель вирус *Cytomegalovirus humanbeta5*); «Н» – Herpes simplex – инфекции, вызванные ВПГ-1 (Simplexvirus humanalpha1) и ВПГ-2 (S.humanalpha2). К подгруппе «о» – «other» (other (англ.) – другие) – первоначально отнесен сифилис (возбудитель грамотрицательная спирохета Treponema pallidum). Затем разными независимыми группами исследователей в список добавлены и другие заболевания, такие как: вирусные гепатиты В, С, D (возбудители вирусы Hepatitis B virus, Hepacivirus hominis, Deltavirus italiense), болезнь, вызванная ВИЧ (возбудители ретровирусы Human immunodeficiency virus 1 и Human immunodeficiency virus 2), ветряная оспа (возбудитель вирус Varicellovirus humanalpha3), листериоз (возбудитель грамположительная бактерия Listeria monocitogenes), парвовирусная инфекция (возбудитель вирус *Erythroparvovirus* primate1). Ha сегодняшний обсуждении день на международном научном сообществе к отнесению в список ToRCH-инфекций к подгруппе «другие»: инфекция, вызванная ВЭБ; инфекции, вызванные ВГЧ-6а и ВГЧ-6b (в научной литературе в настоящее время сохраняется объединенный термин – инфекция, вызванная ВГЧ-6а/b).

1.1 Токсоплазмоз

Токсоплазмоз – убиквитарная антропозоонозная природноочаговая болезнь, характеризующаяся полиморфизмом клинических проявлений и значительной вариабельностью течения инвазионного процесса: от бессимптомного носительства до тяжелых, летальных форм [43]. В зависимости от механизма инвазирования различают врожденный и приобретенный токсоплазмоз.

Возбудителем токсоплазмоза является облигатное внутриклеточное паразитическое простейшее размером 4—7 мкм со сложным факультативно-гетероксенным циклом развития — *Toxoplasma gondii*. По систематическому положению данное паразитическое простейшее относится к типу *Apicomplexa*, классу *Coccidia*, отряду *Eucoccidiorida*, семейству *Sarcocystidae*, роду *Toxoplasma*.

Впервые *T.gondii* (*toxon* (греч.) – дуга, арка; *plasma* (греч.) – форма) описана в 1908 г. Сh. Nicolle и L. Manceaux у грызуна *Ctenodactylus gundi* в Тунисе (Северная Африка) и одновременно, и независимо A. Splendore у домашнего кролика в Бразилии (Южная Америка), а весь цикл ее развития расшифрован в конце 60-х гг. XX в. [44].

T.gondii Дефинитивными (окончательными) хозяевами являются представители семейства Felidae (кошачьи), промежуточными – более 400 видов теплокровных, в том числе: человек, представители семейства Felidae, многие виды птиц. Различают несколько морфологических форм возбудителя: тахизоиты, цисты с брадизоитами, ооцисты со спорозоитами [44]. Тахизоиты и цисты с брадизоитами, характерные для острой и хронической (латентной) стадии заболевания, соответственно, образуются в результате бесполого размножения в организме промежуточных и дефинитивных хозяев [45] Цисты локализуются преимущественно в головном мозге, практически во всех структурах глаз (в том мышечной Это обуславливает числе сетчатке). ткани. длительное персистирование T.gondii с потенциальной возможностью реактивации. Ооцисты образуются в результате полового размножения в эпителиальных клетках кишечника дефинитивных хозяев, затем с фекалиями выделяются во внешнюю

среду, где после спорулирования (1–5 дней) становятся устойчивыми к различным неблагоприятным факторам и сохраняют инвазионность в течение 1,5–2 лет [46].

Геном *T.gondii* гаплоидный, длиной 64 1641 Мб (*Me*), включает около 6000 генов. Различают 3 основных генотипа *T.gondii*: I, II, III [47]. Однако в последнее время большинство филогенетических исследований указывают на то, что структура популяции *T.gondii* является гораздо более сложной, чем первоначально рассматривалось и помимо трех типичных генотипов существует множество атипичных [48]. При анализе 30 локусов, распределенных по всем 14 хромосомам и апикопласту, выявлено по крайней мере 15 гаплогрупп, составляющих в совокупности 6 основных групп [9,49].

Токсоплазмоз имеет широкое, практически повсеместное распространение [50]. В мире инвазировано *Т.gondii* ~2 млрд человек [51]. Распространенность в популяции по данным выявления специфических маркеров токсоплазмоза в разных странах варьирует в широких пределах. В Турции по данным D. Beder et al. (2020) распространенность токсоплазмоза среди населения составляет от 17,5 до 69,5% [52]. В Саудовской Аравии — 27,5% [53], Иране — 30,4% [54]. В Европе самые высокие показатели распространенности зарегистрированы во Франции — до 60%. В целом в Центральной Европе распространенность выше, чем в Скандинавии (14%) или Великобритании (25%). В Австралии инвазировано 25% населения, Индии — 55%, Канаде — 10–20%, США — 22,5%, Японии — 10%. В Российской Федерации данный показатель составляет 28–41,5% [14,15,55]. По данным Е. В. Степановой (2019) частота обнаружения АТ-IgG к АГ *Т.gondii* у людей различного возраста, проживающих в Московском регионе и проходивших диспансеризацию в клиническом центре Сеченовского Университета, при объеме наблюдений 5225 образцов составила 25% [56].

В 1972 г. эксперты ВОЗ включили токсоплазмоз в число зоонозов, которые представляют опасность для здоровья человека и являются одной из причин акушерской и детской патологии. Согласно опубликованным данным в США ежегодно регистрируется от 500 до 5000 случаев врожденного токсоплазмоза [57]. Частота врожденного токсоплазмоза в мире на 1000 детей, рожденных живыми,

составляет: менее 0,1- в Австрии, Швеции и Норвегии; 0,2-0,3- в Польше и Бразилии; до 1- во Франции [10].

В 1980 г. токсоплазмоз признан одной из немногих оппортунистических инфекций протозойной этиологии. В настоящее время токсоплазмоз продолжает занимать 3–5 место в структуре оппортунистических заболеваний у пациентов с ВИЧ-инфекцией во всем мире и 1–2 место среди инфекционных заболеваний ЦНС. Рассматривается связь инвазирования *T.gondii* и шизофрении [58].

Основной источник инвазии — дикие и домашние кошки. Пути заражения человека: алиментарный (тахизоиты, цисты с брадизоитами, спорулированные ооцисты), трансплацентарный (тахизоиты), парентеральный: гемотрансфузии (тахизоиты), трансплантации солидных органов (цисты с брадизоитами); контактный (тахизоиты). Средняя продолжительность инкубационного периода составляет 7–14 дней.

Приобретенный токсоплазмоз в 70-90% случаев протекает бессимптомно [59]. Клинически выраженные формы приобретенного токсоплазмоза, развивающиеся при заражении человека штаммом с высокой вирулентностью и/или большой заражающей дозой возбудителя, встречаются крайне редко [60]. Клиническая картина, в зависимости от органного или системного поражения, характеризуется лихорадкой, лимфоаденопатией, энцефалитом, хориоретинитом, миозитом, миокардитом, пневмонией, гепатоспленомегалией и макулопапулезной сыпью. У пациентов с глубоким иммунодефицитом при первичном инвазировании (5%) или реактивации латентной инвазии (95%) токсоплазмоз вследствие диссеминации T.gondii на фоне иммуносупрессии может развиваться манифестно по типу «токсоплазменного сепсиса» или энцефалита. У больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции главной причиной неврологической патологии является церебральный токсоплазмоз: 34,7% случаев поражения головного мозга и 11% – в виде генерализованного процесса с вовлечением головного мозга, печени, легких и глаз [61]. Заболеваемость токсоплазмозом пациентов после ортотопической трансплантации сердца в Европейский странах не превышает 0,6% и чаще связана со случаями развития первичной инвазии при передаче *T.gondii* с трансплантатом.

Среди клинических проявлений наиболее часто регистрируется пневмония (31,8%), миокардит (22,7%), энцефалит (22,7%) и диссеминированные формы (22,7%) [62]. Не смотря на тяжесть заболевания, своевременная диагностика и проведение рациональной этиопатогенетической терапии позволяет снизить летальность от токсоплазмоза до 13,6%. Летальные исходы чаще регистрируют у пациентов с диссеминированными формами токсоплазмоза, протекающими под маской септического шока и полиорганной недостаточности [43].

Риск инвазирования плода с последующим развитием врожденного токсоплазмоза при первичной инвазии у матери в первом триместре беременности составляет 4-17%, втором -24-29%, третьем -60-62% [63]. Частота и тяжесть инвазирования плода зависит от продолжительности гестации, длительности и интенсивности паразитемии, вирулентности возбудителя. Инвазирование плода в первом триместре беременности приводит к спонтанным выкидышам; во втором – к мертворождению, рождению детей с аномалиями развития (энцефалит, менингоэнцефалит, микроцефалия, гидроцефалия, миокардиты, гепатоспленомегалия, микрофтальмия, хориоретинит), третьем – рождению детей с аномалиями развития, проявляющимися отсрочено (через месяцы и годы) нарушениями зрения и слуха, задержкой психомоторного развития. По данным французских исследователей при врожденном токсоплазмозе у детей наиболее часто выявляется: ретинохориоидит (15,5–26%), внутримозговые кальцификаты (9-13%), гидроцефалия (1-2,4%) [64]. В период новорожденности заболевание может протекать в манифестной (10–15%) или субклинической форме (85–90%), формируя в дальнейшем латентное или хроническое течение, в последнем случае – с более высокой частотой рецидивов и обострений, особенно – в пубертатном возрасте [65]. Трансплацентарная передача *T.gondii* от матери плоду в случае заражения токсоплазмозом женщины до зачатия крайне редка и свойственна, в основном, пациентам с иммунодефицитом. Тем не менее, описаны единичные случаи реинвазии беременных *T.gondii* другого генотипа с последующей вертикальной передачей возбудителя и развитием врожденного токсоплазмоза [48].

Во Франции реализована национальная программа, основанная на ежемесячном повторном обследовании восприимчивых к первичному инвазированию *T.gondii* беременных женщин (выявление специфических AT-IgM, AT-IgG), целью которой является снижение количества тяжелых случаев врожденного токсоплазмоза за счет своевременного лечения (дородового и послеродового) и последующего наблюдения [66].

Значительный полиморфизм клинических проявлений, отсутствие патогномоничных симптомов при токсоплазмозе и разнообразный характер течения болезни практически исключают возможность постановки диагноза только на основании клинической картины, в связи с чем возрастает роль проведения своевременных функциональных исследований, как лабораторных, инструментальных. Этиологическая лабораторная диагностика токсоплазмоза исследований, направленных идентификацию включает комплекс на непосредственно возбудителя, его АГ или ДНК (используются прямые методы) и определение специфических AT классов IgA, IgG, IgM и авидности AT-IgG (используются косвенные методы).

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики. Микроскопия мазков, мазков-отпечатков, гистологических срезов, биопроба на лабораторных животных, выделение возбудителя в культуре клеток позволяют провести идентификацию *T.gondii* в тканях или биологических жидкостях пациента. Данные методы выявления *T.gondii* для рутинной диагностики токсоплазмоза применяются крайне редко ввиду трудоемкости, длительности исполнения, а при постановке биопроб – необходимости лабораторных животных и соблюдения специальных условий их содержания [43].

Для определения AT к AГ *T.gondii* разных классов IgA, IgG, IgM в сыворотке/плазме венозной крови преимущественно применяют метод ИФА. Специфические AT-IgM возникают через 2–3 недели после первичного инвазирования и могут обнаруживаться в течение 12–18 месяцев [75]; незначительное возрастание уровня специфических AT-IgM возможно при реактивации латентного токсоплазмоза. AT-IgA к AГ *T.gondii* появляются через 2

недели с момента инвазирования, достигают максимальной концентрации через месяц и в 90% случаев исчезают через 6 месяцев, вновь появляясь при реактивации. AT-IgG к AГ *T.gondii* появляются в более поздние сроки (с 6–8 недели) и сохраняются пожизненно [46].

Выявление AT-IgM может свидетельствовать о первичной инвазии, реинвазии, суперинвазии или реактивации; AT-IgA – как о первичной инвазии, реинвазии, суперинвазии, так и о реактивации; AT-IgG – о существующей инвазии. Определение авидности специфических AT-IgG к AГ *T.gondii* в сыворотке/плазме венозной крови методом ИФА позволяет уточнить срок давности развития инвазионного процесса, дифференцировать острый и хронический токсоплазмоз. К достоинствам данного метода выявления специфических АТ разных классов относятся простота, высокая специфичность (99,5–100% для обнаружения AT-IgG, 92,6-100% - AT-IgM) и чувствительность (97,1-100% для обнаружения AT-IgG, 65–97,9% – AT-IgM) [64], а также невысокая стоимость исследования; недостаткам – возможность получения ложноположительных [67] и ложноотрицательных Исследование результатов. быть выполнено качественном, может В полуколичественном и количественном форматах.

Для выявления АГ *Т.gondii* возможно применение методов РИФ, РНИФ с использованием моноклональных или высокоочищенных поликлональных АТ. Прогностическая ценность применения названных исследований в сочетании с другими лабораторными и инструментальными процедурами повышается. К недостаткам РИФ, РНИФ относят субъективность при интерпретации полученных данных и зависимость результатов от квалификации специалиста, выполняющего анализ [43]. Данные методы на текущий момент используются крайне редко.

Для выявления ДНК *T.gondii* в биологическом материале используют молекулярно-биологические методы, преимущественно ПЦР. За прошедшие годы апробировано несколько технологий: конвенционная и гнездовая (nested) ПЦР, а также ПЦР с разными вариантами детекции продуктов амплификации [43]. Основными преимуществами использования ПЦР-анализа являются быстрота исполнения в сочетании с высокими показателями диагностической

чувствительности и специфичности, возможность исследования практически любого вида биологического материала, воспроизводимость полученных результатов [68,69]. Результаты исследования не зависят от иммунологического статуса обследуемого пациента и являются решающими при диагностике врожденного токсоплазмоза, токсоплазмоза с поражением глаз, а также при проведении обследования пациентов с иммуносупрессивными состояниями различного генеза. Использование количественного формата ПЦР-исследования позволяет оценить динамику развития инвазионного процесса и эффективность этиотропной терапии токсоплазмоза у разных групп пациентов.

Этиологическая лабораторная диагностика приобретенного токсоплазмоза. Определение специфических AT к AГ T.gondii (различные комбинации сочетаний AT-IgA, AT-IgG, AT-IgM в зависимости от цели проводимого обследования) в сыворотке/плазме крови используют для первичного скрининга и исследований, направленных на верификацию диагноза, установление формы активности инвазионного процесса, также рамках эпидемиологического надзора за токсоплазмозом [70]. Необходимо подчеркнуть, что установить форму и активность инвазионного процесса возможно лишь при сопоставлении результатов исследований, направленных на выявление специфических AT классов IgA, IgG, IgM к AГ T.gondii в динамике: тестирование парных образцов сыворотки/плазмы крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец получен не менее чем через 14 дней после первого). Однократное тестирование, направленное на выявление специфических AT (IgA, IgG, IgM) демонстрирует низкую диагностическую (клиническую) специфичность, достоверно дифференцировать не позволяет острый хронический токсоплазмоз. Для уточнения срока давности инвазии, дифференциации острого и хронического токсоплазмоза проводится определение авидности AT-IgG к AГ *T.gondii* [64]. Обнаружение низкоавидных специфических AT-IgG свидетельствует об острой инвазии, высокоавидных – о хронической. Низкоавидные AT-IgG к AГ *T.gondii* могут выявляться до 3–6 месяцев с момента инвазии [75], в редких случаях – до 6 лет.

Дополнительным исследованием при диагностике поражений головного мозга, обусловленных *T.gondii*, является параллельное тестирование сыворотки/плазмы венозной крови и спинномозговой жидкости, направленное на определение специфических AT-IgG методом ИФА с расчетом величины интратекальной продукции.

иммунокомпетентных ЛИЦ латентный токсоплазмоз (исход приобретенного острого токсоплазмоза в 99,9% случаев) клинико-лабораторно характеризуется отсутствием клинически значимых проявлений, обнаружением специфических AT-IgG к AГ T.gondii с высоким индексом авидности при отсутствии AT-IgM в крови [71]. У лиц с выраженным иммунодефицитом повышение уровня специфических AT-IgG, выявление AT-IgM в крови пациентов наблюдается крайне редко [72]. Определение авидности специфических AT-IgG у пациентов с ВИЧ-инфекцией неоправданно, так как более чем в 90% случаев наблюдается реактивация латентного токсоплазмоза, И, следовательно, определяются высокоавидные АТ [73]. Лабораторное подтверждение диагноза у пациентов с глубоким иммунодефицитом основано на использовании прямых методов исследования [68].

Обнаружение ДНК *T.gondii* используют для выявления и подтверждения развития органной патологии паразитарной этиологии, «токсоплазменного сепсиса». В настоящее время определение ДНК T.gondii в спинномозговой жидкости признано наиболее информативным лабораторным маркером при диагностике церебрального токсоплазмоза (диагностическая (клиническая) 50% (30-100%),(клиническая) чувствительность диагностическая специфичность – более 96%). Количественное определение ДНК *T.gondii* имеет высокое диагностическое значение при мониторинге заболевания у пациентов с выраженным иммунодефицитом, среди которых больные ВИЧ-инфекцией и реципиенты гемопоэтических стволовых клеток и солидных органов [43].

Этиологическая лабораторная диагностика врожденного токсоплазмоза. В Российской Федерации, как и в подавляющем большинстве стран мира, рутинный скрининг беременных на наличие токсоплазмоза не проводят, однако данное

исследование может быть выполнено по желанию женщины [74]. Динамическое лабораторное обследование беременных женщин при подозрении на острый токсоплазмоз является обязательным. По результатам единичного исследования невозможно установить продолжительность инвазионного процесса и точное соответствие той или иной его стадии, тогда как для оценки риска внутриутробного заражения плода этот вопрос является основополагающим [46]. Постановка диагноза на основе однократного выявления AT-IgM к AГ *T.gondii* в сыворотке/плазме периферической крови недопустима. Необходимо использовать дополнительные методы, позволяющие снизить риск неточного диагноза [46].

В настоящее время в Российской Федерации отсутствует официально утвержденная схема пренатальной диагностики врожденного токсоплазмоза. Однако большинство исследователей склоняются к мнению, что обнаружение ДНК T.gondii с помощью прямых методов лабораторной диагностики является важным критерием при постановке диагноза [74,75]. Выбор вида биологического материала при установлении факта инвазирования плода методом ПЦР определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики [16,45]. Проведение амниоцентеза с целью взятия образца амниотической жидкости для лабораторного подтверждения /исключения поражения плода токсоплазмами с помощью прямых методов рекомендовано с 18 недели гестации, но не ранее чем через 4–5 недель после предполагаемого заражения [74,75]. Показано, что обнаружение ДНК *T.gondii* в амниотической жидкости с помощью ПЦР является в настоящее время наиболее надежным тестом пренатальной диагностики врожденного токсоплазмоза [6,64,76]. Прогностическая ценность отрицательного результата составляет около 100% при развитии инвазии у матери в первый или второй триместр беременности, прогностическая ценность положительного результата – 100% [45]. Косвенным подтверждением факта инвазирования плода и развития ВУИ является выявление специфических AT-IgM к AГ *T.gondii* в пуповинной крови (проведение исследования возможно только с 22 недели гестации).

Лабораторная диагностика врожденного токсоплазмоза у новорожденных основана на обнаружении ДНК T.gondii методом ПЦР в пуповинной крови, специфических образцах плаценты; выявлении AT-IgA, AT-IgM сыворотке/плазме пуповинной крови [77]. У детей первого года жизни – на выявлении специфических AT-IgA, AT-IgM и AT-IgG в тот период, когда пассивно полученные материнские АТ уже исчезают (в пределах 5-8 месяцев после рождения), в динамике, а также обнаружении ДНК T.gondii методом ПЦР. При подозрении на врожденный токсоплазмоз обследование ребенка в течение первого года жизни, включающее определение специфических АТ, следует проводить не менее 4—6 раз. В более старшем возрасте исследования проводятся не менее 3 раз в течение года [46].

Особенности интерпретации результатов лабораторной диагностики токсоплазмоза. При проведении этиологической диагностики как приобретенного, так и врожденного токсоплазмоза результаты молекулярно-биологического исследования непременно должны интерпретироваться в совокупности с другими лабораторными и инструментальными методами. Выявление специфического фрагмента ДНК T.gondii в различном биологическом материале методом ПЦР позволяет при однократном тестировании установить факт внутриутробного инвазирования плода, лабораторно подтвердить диагноз [45,64]. Однако достоверность полученных результатов в значительной мере зависит от типа исследуемых биологических образцов, формы и активности инвазионного выборе вида биологического При материала для проведения молекулярно-биологических исследований необходимо учитывать органную или системную патологию, обусловленную T.gondii. Отрицательные результаты выявления ДНК *T.gondii* в образцах венозной крови не исключают наличия инвазии ввиду кратковременности паразитемии при токсоплазмозе. Ложноотрицательные результаты определения ДНК *T.gondii* в спинномозговой жидкости, амниотической жидкости могут быть обусловлены низкой концентрацией возбудителя в данных видах биологического материала.

При анализе результатов клинико-лабораторного обследования важно принимать во внимание, что в отдельных случаях у больных ВИЧ-инфекцией даже при использовании совокупности разных методов лабораторной диагностики не удается подтвердить поражение ЦНС токсоплазменной этиологии [69,78]. Сложность постановки диагноза «церебральный токсоплазмоз» у больных ВИЧ-инфекцией диктует необходимость оптимизации алгоритма лабораторных исследований. Увеличение диагностической чувствительности метода возможно при одновременном исследовании образцов спинномозговой жидкости и крови у данной категории пациентов [69,78,79].

При интерпретации результатов обследования в неонатальный период следует учитывать возможность получения ложноположительных результатов определения AT-IgM к AГ T.gondii в сыворотке/плазме крови, обусловленных наличием перекрестных реакций при выявлении AT-IgM, связанных с содержанием AT-IgM к другим АГ, а также ложноотрицательных результатов, продиктованных иммунологической толерантностью новорожденных. У детей более страших возрастных групп ложноположительные результаты определения AT-IgM к АГ T.gondii также могут быть связаны с наличием ревматоидного фактора [65].

Дифференциальная диагностика. При патологии беременности, гибели плода, мертворождении — ЦМВИ, парвовирусная инфекция, краснуха и др.; новорожденные и дети первого года жизни — герпесвирусные инфекции; при наличии инфекционного синдрома (лихорадка, лимфаденопатия, гепато- и/или спленомегалия), гепатита неясной этиологии, хориоретинита, заднего увеита, поражения ЦНС — герпесвирусные инфекции, ВИЧ-инфекция с вторичными поражениями другого генеза (ЦМВИ, микозы, прогрессирующая лейкоэнцефалопатия и пр.).

Профилактика токсоплазмоза. К основным мерам по профилактике токсоплазмоза, позволяющим существенно снизить риск заражения, относятся: соблюдение правил личной гигиены; использование защитных перчаток и/или тщательное мытье рук после контакта с почвой, сырым мясом и субпродуктами;

отказ от употребления в пищу недостаточно термически обработанных мясных блюд, в том числе дегустации мясного фарша во время его приготовления; тщательное мытье овощей, ягод, зелени перед употреблением в пищу; ограничение контактов с кошками, другими животными из семейства кошачьих и исключение уборки их экскрементов без защитных перчаток женщинам во время беременности.

1.2 Краснуха

Краснуха — острая антропонозная вирусная инфекция, характеризующаяся умеренно выраженной лихорадкой, мелкопятнистой экзантемой, генерализованной лимфаденопатией и поражениями плода у беременных [21,80,81]. Возбудителем краснухи является РНК-содержащий вирус *Rubivirus rubellae*, относящийся к семейству *Matonaviridae*, роду *Rubivirus* [82]. В зависимости от механизма инфицирования различают приобретенную (постнатальную) и врожденную краснуху.

Впервые краснуха была описана в 1834 г., а в 1881 г. на Международном конгрессе в Великобритании утверждена в виде отдельной нозологической формы. В 1941 г. австралийский офтальмолог N. Gregg описал связь врожденной катаракты и врожденных пороков сердца у новорожденных с краснушной инфекцией у матери во время беременности [83].

Вирион *R.rubellae* имеет экосаэдрический тип симметрии. Геном вируса краснухи длиной 9762 нуклеотида, включает 5 генов, кодирующих 3 структурных (Е1, Е2, С) и 2 неструктурных белка (Р150, Р90) [84,85]. Филогенетический анализ, выполненный для Е1 кодирующего региона, свидетельствует о существовании 13 различных генотипов вируса краснухи, объединенных в две группы. Генетическая дистанция между группами (кладами) составляет 0,08–0,1 [86]. Группа 1 включает генотипы: 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, а группа 2 – 2A, 2B, 2C [86]. Данные о глобальном распространении генотипов *R.rubellae* достаточно ограничены. На территории Российской Федерации выявлены 5 генотипов вируса краснухи, относящиеся как к группе 1, так и группе 2, а именно: 1E, 1G, 1h, 2C, 2B [87].

Сообщается о существенном сокращении разнообразия циркулирующих штаммов в мире, что обусловлено снижением заболеваемости краснухой. С середины 2017 г. преимущественно выделяются штаммы вируса, принадлежащие к генотипам 1Е и 2В [88,89,90]. В настоящее время известен только один серотип *R.rubellae* [91].

R.rubellae малоустойчив во внешней среде, легко разрушается детергентами (эфир, формалин и др.), нагреванием или предельными значениями рН (ниже 6,8 и выше 8,0) [92].

Источником и резервуаром инфекции является человек. Механизм передачи: аэрозольный. Пути передачи: воздушно-капельный, контактно-бытовой, трансплацентарный [21]. Факторы передачи: носоглоточный секрет, слюна, кровь, моча. Продолжительность инкубационного периода составляет 9–23 дня (в среднем 21 день) [92]. Возможны случаи реинфекции, протекающие бессимптомно или со слабо выраженной симптоматикой [92,93]. Вероятность реинфекции выше у ранее вакцинированных, по сравнению с лицами, имеющими постинфекционный иммунитет [92].

Для приобретенной краснухи наиболее характерными клиническими проявлениями являются макулопапулезная сыпь, генерализированная лимфаденопатия, артропатия (~70% взрослых, редко у детей). Заболевание в большинстве случаев имеет благоприятный прогноз. К основным осложнениям относят тромбоцитопеническую пурпуру, поражение нервной системы (энцефалит, менингоэнцефалит, синдром Гийома-Барре и др.) [21], в редких случаях – прогрессирующий краснушный панэнцефалит [94]. Показано, что в 25–50% случаев краснухи протекают инаппарантно или в стертой форме [21,95,100,101]. У беременных вирус, обладая тератогенными свойствами, проникает через плаценту и вызывает эмбрио- и фетопатии, приводящие к патологии развития, смерти плода; самопроизвольному выкидышу или мертворождению [21]. При инфицировании в первые 12 недель беременности риск развития СВК достигает 80–90%, затем существенно снижается в период до 20-й недели беременности [96]. Классическая триада дефектов СВК включает катаракту, пороки сердца и нейросенсорную глухоту (синдром Грегга) [97]. К числу отдаленных последствий, ассоциированных

СВК, c относят различные неврологические проявления, также инсулинозависимый сахарный диабет. При заражении матери после 20-й недели беременности новорожденных, правило, ВКИ, y как выявляется характеризующаяся отсутствием врожденных пороков развития [96]. Опасность воздействия R.rubellae тератогенного подтверждена эпидемиологическими наблюдениями в США, где во время вспышки краснухи (1964–1965 гг.) заболело 12,5 млн человек, что привело к >11 250 случаев искусственного прерывания беременности по медицинским показаниям, CBK - > 20~000, неонатальной смерти $-\sim 2000$, нейросенсорной глухоты $-> 11\,000$, потери зрения -3580 и умственной отсталости – 1800 случаев [21,98]. Это послужило началом интенсификации исследований по изучению вируса краснухи, получению вакцинного штамма и разработке методов специфической профилактики. В настоящее время краснуха относится к разряду управляемых инфекций с помощью средств специфической вакцинопрофилактики [99,100,101,102,103,104,105]. По данным ВОЗ на январь 2024 года специфическая вакцинация от краснухи внедрена в 175 из 194 стран региона, оценочный средний показатель охвата прививками от краснухи в общемировом масштабе составил 69%. Число зарегистрированных случаев заболевания краснухой снизилось на 97% – с 670 894 случаев в 102 странах в 2000 г. до 17 865 случаев в 78 странах в 2022 г. Наиболее высокие показатели СВК зарегистрированы в Африканском регионе и странах Юго-Восточной Азии, где отмечается самый низкий уровень охвата населения вакцинацией против краснухи [22]. Так, наибольшее число случаев СВК в 2016 г. зарегистрировано в Индонезии [106]. В Российской Федерации вакцинация против краснухи была включена в Национальный календарь профилактических прививок в 1997 г. [Приказ Минздрава РФ от 18.12.1997 N 375 (ред. от 30.12.1998) «О Календаре профилактических прививок»]. Однако отсутствие отечественной вакцины и экономические трудности отсрочили проведение вакцинации до 2001 г. Полномасштабная плановая вакцинация и ревакцинация благодаря реализации дополнительных национальных программ иммунизации осуществляется с 2002-2005 гг. В 2002 г. Европейским региональным бюро ВОЗ была разработана

«Стратегическая программа предупреждения кори и врожденной краснушной инфекции в Европейском регионе». В 2004 г. наряду с элиминацией кори и предупреждением ВКИ/СВК в программу была включена задача элиминации краснухи к 2010 г. [107]. С 2013 г. в Российской Федерации произошла интеграция эпидемиологического надзора за краснухой в уже существующую систему надзора за корью и разработана программа элиминации краснухи [108]. В последние годы в стране эпидемическая ситуация в отношении краснухи является благополучной [109]. В 2018 г. экспертной комиссией ВОЗ констатировано достижение элиминации данного заболевания в Российской Федерации [110]. Оперативные задачи по элиминации краснухи в Российской Федерации предусматривали обоснованного разработку интегрированного научно надзора, включая эпидемиологический надзор за краснухой у беременных; совершенствование управления эпидемическим процессом; разработку современного системы программного обеспечения эпидемиологического надзора за краснухой в условиях элиминации; совершенствование методических подходов и лабораторных методов исследования диагностики краснухи И других экзантемных заболеваний инфекционной этиологии в условиях элиминации эндемичной молекулярно-генетический мониторинг диких штаммов вируса, позволяющий оценить прогресс в достижении региональной элиминации инфекции и подтвердить прекращение местной циркуляции; генотипирование филогенетический анализ штаммов, направленный на мониторинг генетической изменчивости вируса и совершенствование номенклатуры его генотипов; изучение механизмов формирования гуморального и клеточного звеньев иммунитета против краснухи при заболевании и вакцинации [111]. В 2018 г. внедрен алгоритм проведения сероэпидемиологического анализа состояния коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи в группах риска (медицинские работники и студенты медицинских вузов) [112].

Диагностика краснухи основана на анализе клинико-эпидемиологических данных и проведении своевременных лабораторных исследований (прямые и

косвенные методы), обеспечивающих высокий уровень достоверности полученных результатов и их прогностической ценности.

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики. Для определения специфических AT-IgG, AT-IgM к AГ *R.rubellae* в сыворотке/плазме крови применяют иммунохимический метод, преимущественно ИФА, ХЛИА. При приобретенной краснухе вирусоспецифические AT-IgM появляются одновременно с экзантемой на 14–18 день после заражения и обычно не обнаруживаются через 2 месяца после появления сыпи [95] (рисунок 1.1).

Вирусоспецифические AT-IgG начинают продуцироваться в те же сроки, что и AT-IgM, достигают максимальной концентрации через 3—4 недели и сохраняются пожизненно [92,95] (рисунок 1.1).

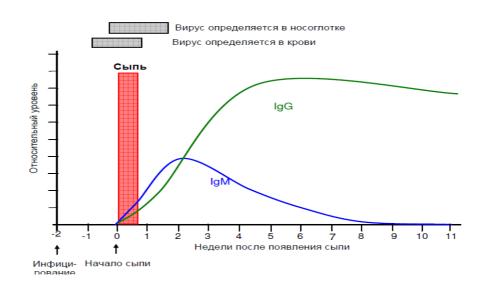


Рисунок 1.1 – Динамика выявления специфических маркеров приобретенной краснухи при типичном течении первичной инфекции [95]

Для уточнения срока давности развития инфекционного процесса проводят определение авидности вирусоспецифических AT-IgG [92,93,100,116]. Низкоавидные AT-IgG к AГ возбудителя выявляются до 25-го дня с момента появления сыпи при первичной краснухе и отсутствуют при реинфекции [93]. При ВКИ, СВК вирусоспецифические AT-IgM начинают продуцироваться через 10–13

недель от начала гестации и сохраняются до 8–12 месяцев после рождения. Одновременно выявляются специфические AT-IgG к AГ *R.rubellae*, полученные от матери, постепенно замещающиеся собственными AT-IgG ребенка через несколько месяцев после рождения.

К достоинствам иммунохимического метода (ИФА, ХЛИА), направленного на определение специфических АТ разных классов, относятся простота, высокая специфичность и чувствительность, возможность стандартизации и автоматизации применяемых методик, невысокая стоимость исследования; недостаткам — возможность получения ложноположительных, ложноотрицательных результатов, необходимость проведения повторного тестирования (например, исследование парных образцов сыворотки/плазмы крови для подтверждения сероконверсии и динамической оценки концентрации) и подтверждающих тестов. Исследование выполняется в разных форматах: качественном, полуколичественном, количественном.

Для выявления РНК вируса краснухи преимущественно используют молекулярно-биологический метод, а именно ОТ-ПЦР с гибридизационнофлуоресцентной детекцией продуктов амплификации и анализом получаемых результатов в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) или по конечной точке. При приобретенной краснухе виремия начинается на 5-7 инфицирования [95]. Наибольших значений концентрация вируса в крови достигает через ~10-14 дней с момента заражения и до появления первых клинических симптомов. В этот период R.rubellae так же идентифицируется в образцах назофарингеального слюны, носоглоточного мазка, смыва инфицированного. При развитии ВУИ у плода вирус краснухи обнаруживается в ворсинках хориона, плаценте, амниотической жидкости, пуповинной крови. Следует подчеркнуть, что молекулярно-биологические методы для диагностики краснухи успешно используют в различных клинико-диагностических и научноисследовательских центрах разных стран мира [100,113,114,115]. Исследование может быть выполнено в разных форматах: качественном, количественном.

Выделение *R.rubellae* в культуре клеток (Vero/Slam, RK) с помощью вирусологического метода в настоящий момент не используется для рутинной диагностики краснухи ввиду низкой эффективности, трудоемкости и длительности выполнения исследования.

Показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов имеют свои особенности как при приобретенной, так и врожденной инфекции.

Этиологическая лабораторная диагностика приобретенной краснухи. Определение вирусоспецифических AT-IgM, AT-IgG (ИФА, ХЛИА) играет одну из ведущих ролей в лабораторной диагностике приобретенной краснухи, AT-IgG обследовании определения при скрининговом c целью оценки постинфекционного, поствакцинального иммунитета. Обнаружение AT-IgM к AГ R.rubellae свидетельствует о первичном инфицировании или реинфекции. Вирусоспецифические AT-IgM также могут быть выявлены после недавней вакцинации [116]. Определение AT-IgG к AГ R.rubellae целесообразно проводить количественном формате в динамике: тестирование парных образцов сыворотки/плазмы венозной крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец получен не менее чем через 10–14 дней после первого, собранного на 4-5 календарный день с момента появления сыпи). При лабораторным подтверждением первичного инфицирования результата определение перехода отрицательного положительный В (сероконверсия) или четырехкратное и более увеличение концентрации вирусоспецифических AT-IgG во втором образце [101]. Повышение уровня AT-IgG к AГ R.rubellae при отсутствии выраженной клинической картины заболевания может являться доказательством развития реинфекции (особенно у ранее вакцинированных). Для уточнения срока давности развития инфекционного дифференциации первичной и вторичной краснухи проводится определение авидности вирусоспецифических AT-IgG. Низкий уровень авидности указывает на недавнюю инфекцию и может быть обнаружен в течение четырех месяцев после инфицирования. При обнаружении высокоавидных AT-IgG к АГ

R.rubellae можно предполагать, что инфекционный процесс вышел за пределы ранней стадии [116].

При применении только косвенных методов лабораторной диагностики приобретенной краснухи (определение вирусоспецифических AT-IgM, AT-IgG и авидности AT-IgG) нередко возникает затруднение в интерпретации результатов, которое может быть обусловлено персистированием в крови AT-IgM к AГ *R.rubellae* в течение нескольких месяцев как после первичного инфицирования или реинфекции, так и вакцинации; наличием перекрестных реакций при выявлении вирусоспецифических AT-IgM, связанных с содержанием ревматоидного фактора или AT-IgM к АГ *E.primate1*, ВЭБ и др.; а также возможностью парадоксально раннего появления вирусоспецифических AT-IgG [95,101,113,117,118,119].

Обнаружение РНК R.rubellae методом ОТ-ПЦР успешно применяется для ранней диагностики краснухи в короткие сроки, также В качестве [95,100,113,114,119,120,121]. теста При подтверждающего необходимости идентификации генотипов R.rubellae в рамках генетического мониторинга циркуляции вируса на региональном и глобальном уровнях, при расследовании вспышек заболевания, выявлении импортированных случаев краснухи доказательства отсутствия циркуляции эндемичных генотипов R.rubellae, отбор образцов биологического материала (моча, носоглоточные смывы, спинномозговая жидкость) пациентов для исследования проводят на 1–3 день с момента появления сыпи [101].

Этиологическая лабораторная диагностика ВКИ, СВК. Медицинское наблюдение и динамическое обследование беременных женщин с помощью иммунохимического метода (ИФА, ХЛИА), больных краснухой или находившихся в очагах краснушной инфекции в целях предупреждения развития врожденных заболеваний новорожденных, является обязательным [101]. Согласно клиническим рекомендация «Нормальная беременность» (2024) рекомендуется однократно направить женщину, планирующую беременность (на прегравидарном этапе), или беременную при первом визите (в первом или втором триместре беременности) на определение AT-IgG и AT-IgM к АГ вируса краснухи с целью выявления

серонегативных пациенток [122]. Отсутствие сведений у беременной по наличию AT-IgG к AГ вируса краснухи является основанием для обязательного обследования на наличие вирусоспецифических АТ в случае ее контакта с больным в очаге инфекции.

У беременных больных краснухой подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи *R.rubellae* от матери к плоду, инфицирования плода, развития ВУИ осуществляется на основании идентификации РНК возбудителя методом ОТ-ПЦР. При этом выбор вида биологического материала для исследования определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: амниоцентез, кордоцентез. Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM в сыворотке/плазме пуповинной крови (проведение исследования возможно с 22 недели беременности) является только косвенным подтверждением факта инфицирования плода и развития ВУИ [80].

Лабораторная диагностика ВКИ или СВК у новорожденных и детей в возрасте до года основана на выявлении вирусоспецифических AT-IgM в сыворотке/плазме венозной крови и/или обнаружении РНК вируса краснухи в любом биологическом материале (кровь, слюна, мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, спинномозговая жидкость, моча). Ребенок с врожденной краснухой, независимо OT ee клинической формы (манифестной бессимптомной), в течение первого года жизни является источником инфекции и подлежит протяжении ЭТОГО срока динамическому лабораторному обследованию [95,101]. Отсутствие вирусоспецифических AT-IgM в неонатальный период с большей долей вероятности свидетельствует об исключении ВКИ или СВК, однако в случае наличия иммунологической толерантности результат может быть ложноотрицательным и требует повторения тестирования через 1 месяц [95]. Обнаружение РНК R.rubellae в ткани плаценты подтверждает диагноз, но отсутствие не исключает его и предопределяет динамическое (ежеквартальное) обследование ребенка. Определение вирусоспецифических AT-IgG проведении динамического обследования детей до года, когда пассивно

полученные материнские AT-IgG исчезают, указывает на высокую вероятность ВКИ или СВК. Все дети с ВКИ, и особенно с СВК, могут выделять вирус в постепенно снижающейся концентрации, по крайней мере, на протяжении всего первого года жизни [92,93, 100,123].

Лабораторные исследования в рамках надзора за краснухой и СВК включают как определение специфических косвенных маркеров острой инфекции в сыворотке/плазме венозной крови больных с подозрением на краснуху с использованием иммунохимического метода (ИФА, ХЛИА), так и молекулярнобиологические исследования (метод прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру)), направленные на определение генотипа вируса. Информация, получаемая в результате генотипирования R.rubellae, позволяет отслеживать его циркуляцию на региональном и глобальном уровнях, дифференцировать местные и завозные случаи инфекции. С 2004 г. действует рекомендованный экспертами ВОЗ протокол генотипирования вируса краснухи [124]. В Российской Федерации генетический мониторинг циркуляции R.rubellae осуществляется согласно методическим рекомендациям (2019) [125]. Для рутинного молекулярно-генетического анализа используется участок гена, кодирующего белок Е1, размером 739 нуклеотидов. Номенклатура генотипов вируса краснухи предусматривает единый подход в наименовании штаммов [124,125].

Дифференциальная диагностика. Дифференциальную диагностику краснухи проводят от аденовирусной инфекции, энтеровирусной инфекции, внезапной экзантемы, инфекционной эритемы, инфекционного мононуклеоза, розового лишач, кори, лекарственной экзантемы, токсикодермии и др.

Специфическая профилактика краснухи. На современном этапе основным методом защиты населения от краснухи является вакцинопрофилактика. В Российской Федерации иммунизация проводится в рамках Национального календаря профилактических прививок и Календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям иммунобиологическими препаратами, зарегистрированными в установленном порядке. Детям и взрослым, получившим

прививки в рамках Национального календаря профилактических прививок, в сыворотке/плазме венозной крови которых не обнаружены вирусоспецифические АТ-IgG, вакцинацию проводят дополнительно. В субъектах страны проводится работа, направленная на выявление лиц, не болевших и не привитых против краснухи среди труднодоступных слоев населения (мигрантов, беженцев, вынужденных переселенцев, кочующих групп населения) и их иммунизацию в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок [101]. Для обеспечения популяционного иммунитета к краснухе, достаточного для предупреждения распространения данной инфекции среди населения, охват прививками должен составлять:

- $-\ge95\%$ вакцинацией и ревакцинацией в декретированных возрастах;
- $-\ge90\%$ вакцинацией женщин в возрасте 18–25 лет.

Обеспечение санитарно-эпидемиологического В благополучия. целях предупреждения возникновения и распространения краснухи в Российской Федерации проводится ряд санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, включающий: оценку эпидемиологической ситуации прогнозирование тенденций ее развития; проведение исследования напряженности иммунитета у привитых лиц; иммунизация не иммунных к краснухе лиц, выявленных по результатам серологического мониторинга; оценка эффективности проводимых мероприятий [101].

1.3 Цитомегаловирусная инфекция

ЦМВИ — хроническая антропонозная болезнь вирусной этиологии, характеризующаяся различными формами патологического процесса — от латентной инфекции до клинически выраженного генерализованного заболевания [126,127]. Возбудителем ЦМВИ является цитомегаловирус человека или вирус герпеса человека 5 (ЦМВ, ВГЧ-5) — *Cytomegalovirus humanbeta5* — ДНК-содержащий вирус, принадлежащий семейству *Orthoherpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Cytomegalovirus* [128]. В зависимости от механизма

инфицирования различают приобретенную (постнатальную) и врожденную ЦМВИ.

ЦМВ термолабилен: инактивируется при нагревании до 56 °C и медленном замораживании; быстро разрушается при рН=3. Однако он хорошо сохраняется при комнатной температуре и сравнительно стабилен при рН=5−9 [129].

ЦМВ способен длительно латентно персистировать во многих органах, обладая возможностью инфицировать практически все клетки организма человека, что предопределяет многообразие клинических проявлений заболевания [126,130].

Патологические изменения, вызванные ЦМВ, впервые описал Н. Ribbert в 1881 г., обнаружив в эпителии почечных канальцев мертворожденного ребенка гигантские клетки [130]. В 1921 г. Е. Goodpasture и F. Talbert выявили аналогичные клетки в легких, почках и печени умершего новорожденного ребенка и назвали эти клетки цитомегалами, а само заболевание – цитомегалией [130,131].

Структура вириона ЦМВ по строению сходна с остальными вирусами герпеса человека: сферической формы, наружная оболочка пронизана гликопротеиновыми шипами, сформированными белками внутреннего слоя ядерной мембраны. Оболочка содержит по крайней мере 8 гликопротеинов, включая гликопротеин В, рассматриваемый как вирусный рецептор и важный вирусный индуктор иммунного ответа [131]. Геном ЦМВ кодирует 33 структурных белка, несколько неструктурных и является самым длинным из всех геномов представителей семейства Orthoherpesviridae [132]. Установлено, что ЦМВ генетически гетерогенен. Степень различий между генотипами варьирует от 3 до 55%.

ЦМВ широко распространен в человеческой популяции. Уровень инфицированности населения очень высок, в отдельных городах он достигает 90%, среди сельского населения почти в 2 раза ниже — около 50% [129]. Показано, что важную роль играет не столько географический регион, сколько социально-экономический статус обследуемых. Присутствие специфических АТ к АГ ЦМВ в популяциях с высоким социально-экономическим уровнем варьирует от 40 до 60%, в низших социально-экономических группах населения — от 80 до 100%. Заражение

обычно происходит в раннем детстве, с возрастом доля инфицированных ЦМВ увеличивается [131].

Резервуаром и источником ЦМВИ служит человек, выделяющий вирус во время острой, реактивированной или персистентной формы заболевания. Факторы передачи: слюна, кровь, моча, семенная жидкость, секрет шейки матки, грудное молоко, реже слезная жидкость и др. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой, половой, антенатальный (трансплацентарный) интранатальный, парентеральный [129,130,131]. Входными воротами инфекции в антенатальном и интранатальном периодах могут быть плацента и плодные оболочки, в неонатальном и любом возрасте – слизистые оболочки верхних дыхательных путей, генитального, пищеварительного тракта, кожные покровы, конъюнктива. Вирус проникает в кровь и внедряется в лейкоциты и лимфоидные органы, где происходит его репликация [127,130,133]. Эпителиальные и эндотелиальные клетки, фибробласты и гладкомышечные клетки являются преобладающей мишенью репликации. Инфицированные ДЛЯ клетки увеличиваются в размерах, приобретают типичную морфологию с ядерными включениями, представляющими собой скопления вируса [133]. Постнатальная ЦМВИ в подавляющем большинстве случаев протекает бессимптомно (80–95%) или в виде нетяжелого катара верхних дыхательных путей, либо с длительным субфебрилитетом в виде мононуклеозоподобного синдрома (5%) [134]. Процесс относительно редко принимает генерализованный характер. Заболевание может протекать с изолированным поражением слюнных желез или висцеральных органов. Продолжительность инкубационного периода при постнатальной ЦМВИ варьирует в пределах 15–90 дней.

ЦМВИ относят к оппортунистическим инфекциям, особую опасность представляет для больных с иммунодефицитами различного генеза. Реактивация вируса возникает при различных иммунодефицитных состояниях, в том числе беременности (естественная иммуносупрессия), применении иммунодепрессантов, ВИЧ-инфекции [126,127]. Манифестная ЦМВИ, сопровождающаяся поражением различных органов: легких, печени, почек, надпочечников, желудочно-кишечного

тракта, головного мозга и др., занимает одно из первых мест в структуре оппортунистических заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов [126,135].

ЦМВИ принадлежит к ToRCH-инфекциям, являясь одной из ведущих причин мертворождений, самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, заболеваемости новорожденных и младенческой смертности [28,126]. В развитых странах врожденную ЦМВИ отмечают у 0,3-2,4% выживших новорожденных [31,32]. При первичной материнской ЦМВИ заражение плода наблюдают в 30–40% случаев [32]. Реактивация латентной ЦМВИ или реинфекция другим штаммом ЦМВ в период беременности приводит к внутриутробному инфицированию в 0,2-2,0% случаев. Характер поражения зависит от сроков инфицирования. Вероятность инфицирования является наименьшей в первые два триместра беременности (20%) и достигает 40% к ее окончанию. Инфицирование в ранние сроки беременности приводит в ряде случаев к гибели плода, выкидышу, мертворождению или инфекции. Наиболее развитию острой врожденной ТИПИЧНЫМИ симптомокомплексами врожденной ЦМВИ являются: недоношенность, низкая масса тела при рождении, персистирующая желтуха, гепатоспленомегалия, геморрагическая сыпь, поражение ЦНС (B TOM числе микроцефалия), хориоретинит, интерстициальный нефрит, тромбоцитопения, анемия, лимфоаденопатии. Течение ЦМВИ определяется особенностями преморбидного состояния ребенка. Врожденная ЦМВИ может протекать в генерализованной форме с поражением различных органов и систем. При этом у детей, перенесших генерализованную форму врожденной ЦМВИ, в дальнейшем почти в 90% случаев отмечаются разнообразные соматические и неврологические дефекты развития, серьезные осложнения, приводящие к инвалидизации и значительному снижению качества жизни. При бессимптомном течении врожденной ЦМВИ у 5–17% детей выявляются: нейросенсорная глухота, задержка психомоторного развития, минимальные мозговые дисфункции, аутизм и другие психоневрологические изменения [136].

Многообразие клинических форм проявления ЦМВИ требует обязательного лабораторного подтверждения диагноза. Этиологическая лабораторная

диагностика включает микроскопические исследования, выявление возбудителя в культуре клеток, выявление АГ или ДНК ЦМВ, определение вирусоспецифических AT IgA, IgM, IgG и авидности AT-IgG [127].

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики. При использовании световой микроскопии цитомегалы (гигантские клетки с внутриядерными включениями типа «совиный глаз») могут быть обнаружены в осадке мочи, выводных протоках слюнных желез, а также в пораженных тканях легких, кишечника, головного мозга, поджелудочной железы, эпителии почечных канальцев и других [127,129]. Метод позволяет диагностировать ЦМВИ лишь в 50% случаев, отсутствие в препарате цитомегалических клеток не исключает ее наличия [137]. На основании результатов, полученных при использовании данного метода, нельзя судить об активности инфекционного процесса, что является прогностически важным (например, во время беременности) [129]. В настоящее время микроскопическое исследование для рутинной диагностики ЦМВИ не используется.

Выделение возбудителя в культуре клеток ранее долгое время называли «золотым стандартом» в диагностике ЦМВИ. Известны классический метод выделения ЦМВ в культуре клеток с определением цитопатического эффекта и быстрый культуральный метод (БКМ) с оценкой результатов выявления ранних АГ при помощи моноклональных АТ. Однако вирусологические методы в клинической практике не получили широкого распространения из-за недостаточно высокой чувствительности, сложности выполнения, необходимости специального оборудования [127,129], а также трудоемкости и длительности исследования (в традиционном исполнении для получения окончательного результата требуется 2—3 недели, БКМ — 24 ч.) [135].

Выявление специфических АТ различных классов к АГ ЦМВ в сыворотке/плазме крови проводится методами иммуноблотинга или ИФА в качественном, полуколичественном и количественном форматах. При первичном инфицировании вирусоспецифические АТ-IgM, AT-IgG появляются практически одновременно в течение месяца и достигают максимума через 2–3 месяца от

момента инфицирования. Специфические AT-IgM к AГ ЦМВ после первичного инфицирования выявляются в среднем до 4 месяцев. При реактивации процесса вирусоспецифические AT-IgM появляются вновь и циркулируют наряду с AT-IgG. На текущий момент в клинической практике вследствие быстроты, доступности и простоты выполнения в лабораторных условиях имеет широкое распространение определение вирусоспецифических AT IgA, IgG, IgM в сыворотке/плазме периферической, пуповинной крови методом ИФА [129]. Диагностическая специфичность метода – 95%, диагностическая чувствительность – 99%. Для инфицирования, установления определения сроков периода развития инфекционного процесса, дифференцирования первичной инфекции от инфекции, перенесенной в прошлом проводят определение авидности вирусоспецифических AT-IgG в сыворотке/плазме периферической крови (метод ИФА).

Для обнаружения АГ вируса в слюне и моче используют метод РИФ. В связи с частой персистенцией ЦМВ выявление АГ не указывает на активность инфекционного процесса. Для диагностики активной ЦМВИ возможно использовать выявление АГ рр65 вируса в лейкоцитах крови [127,128]. Обнаружение АГ рр65 ЦМВ является более ранним показателем активной инфекции, чем обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM [137]; выявление в крови пациента возможно за 7–30 дней до появления клинических симптомов. К недостаткам метода относят субъективность при интерпретации полученных данных и зависимость результатов от квалификации специалиста [135].

В настоящее время основным методом диагностики инфекции, вызываемой ЦМВ, является количественное определение ДНК вируса в лейкоцитах крови, цельной крови, плазме крови, моче, слюне; отделяемом влагалища, уретры, биопсийном цервикального канала; материале И методом ПЦР-РВ др. [127,135,137]. Выявление и количественное определение ДНК ЦМВ методом ПЦР можно проводить в различных видах биологического материала. Для определения ДНК или РНК ЦМВ предложены несколько молекулярно-биологических методов [131,133,135,137]. Преимуществом ПЦР-РВ гибридизационнометода флуоресцентной детекцией продуктов амплификации для определения ДНК ЦМВ

является его высокие показатели диагностической чувствительности (85–100%) и специфичности (100%), а также быстрота исполнения и воиспроизводимость получаемых результатов. С помощью метода ПЦР ЦМВИ может быть диагностирована еще за две недели до начала симптоматики.

Показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов у разных категорий обследуемых. В настоящее время выявление специфических АТ различных классов к АГ ЦМВ (метод ИФА) широко применяется в клинической практике. Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgG в качественном формате позволяет провести скрининговые исследования для установления наличия иммунитета к ЦМВ, в количественном формате — провести динамическое наблюдение, оценить состояние постинфекционного иммунитета к ЦМВ. Обнаружение вирусоспецифических АТ-IgM свидетельствует о первичном инфицировании, реактивации, реинфекции или суперинфекции; АТ-IgA — как о первичной инфекции, так и о реактивации.

При трактовке результатов следует учитывать, что однократное выявление специфических AT-IgM и/или IgG недостаточно ни для установления факта активной репликации ЦМВ, ни для подтверждения манифестной формы заболевания [126]. Для этих целей необходимо сопоставление результатов исследований, направленных на выявление специфических АТ к АГ ЦМВ в динамике: тестирование парных образцов сыворотки/плазмы исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец получен не менее чем через 14 дней после первого). Лабораторным подтверждением первичной инфекции является: выявление вирусоспецифических AT-IgM и/или обнаружение (сероконверсия) или 4-кратное и более увеличение концентрации низкоавидных вирусоспецифических AT-IgG во втором образце. Обнаружение только вирусоспецифических AT-IgG без увеличения уровня при парных образцов сыворотки/плазмы периферической крови исследовании указывает на латентную форму ЦМВИ. Именно для уточнения срока давности развития инфекционного процесса, дифференциации первичной и вторичной ЦМВИ проводится определение авидности вирусоспецифических AT-IgG.

Обнаружение низкоавидных специфических AT-IgG к AГ вируса свидетельствует об острой инфекции, высокоавидных – о хронической. При первичной ЦМВИ низкоавидные вирусоспецифические AT-IgG выявляются в период до 12 недель [138].

При диагностике поражений головного мозга, обусловленных ЦМВ, дополнительным исследованием является параллельное тестирование сыворотки/плазмы крови и спинномозговой жидкости, направленное на выявление вирусоспецифических AT-IgG методом ИФА с расчетом величины интратекальной продукции.

Выявление вирусоспецифических АТ IgA, IgM, IgG при диагностике ЦМВИ у пациентов с иммуносупрессией, выраженным иммунодефицитом (в том числе у больных ВИЧ-инфекцией) малоинформативно, что в первую очередь обусловлено дефектом иммунной системы у пациентов данной категории. При интерпретации результатов обследования в неонатальный период следует учитывать возможность получения ложноотрицательных результатов определения АТ-IgM к АГ ЦМВ, продиктованных иммунологической толерантностью новорожденных.

Клиническое значение определения ДНК ЦМВ в различных биологических жидкостях неодинаково. Присутствие ДНК возбудителя в слюне — лишь маркер инфицированности, не свидетельствующий о существенной вирусной активности. Наличие ДНК ЦМВ в моче доказывает факт заражения и присутствие определенной вирусной нагрузки, однако из-за длительного выделения вируса его присутствие в моче не является единственным критерием активной ЦМВИ и ЦМВБ (исключение: врожденная ЦМВИ). Наиболее важное диагностическое значение имеет обнаружение ДНК ЦМВ в крови, свидетельствующее о высокоактивной репликации вируса [139]. С помощью ПЦР ДНК ЦМВ может быть выявлена в крови при бессимптомной ЦМВИ, что важно для оценки риска передачи вируса плоду или для мониторинга пациентов с иммунносупрессией (используется количественный формат оценки получаемых результатов).

ПЦР-исследование в качественном формате целесообразно применять для обнаружения ДНК ЦМВ в крови у беременных, а также для подтверждения ЦМВИ

у новорожденных. В случае обследования больных при подозрении на активную и манифестную ЦМВИ необходимо проводить количественное определение содержания ДНК вируса в крови [127].

Показано, что уровень концентрации ДНК ЦМВ в крови коррелирует с риском и тяжестью заболевания ЦМВИ у пациентов с иммунодефицитом [136]. Вирусная нагрузка, имеющая прогностическое значение, составляет 10³ копий ДНК ЦМВ/10⁵ лейкоцитов крови — порог клинической значимости; 10⁴ копий ДНК ЦМВ/10⁵ лейкоцитов крови — порог манифестной ЦМВИ [140]. Ведущим диагностическим критерием, подтверждающим поражение головного мозга, обусловленное ЦМВ, служит обнаружение ДНК возбудителя в спинномозговой жидкости в концентрации более 10³ копий/мл.

Выявление ДНК ЦМВ в крови беременной – основной маркер высокого развития врожденной ЦМВИ. Лабораторное риска заражения плода И обследование беременных с первичной или реактивированной ЦМВИ направлено главным образом на подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи ЦМВ от матери к плоду. Установление факта инфицирования плода, развития ВУИ осуществляется на основании идентификации возбудителя, обнаружении его ДНК в амниотической жидкости, пуповинной крови. Выбор типа биологического материала для исследования определяется с учетом срока гестации плода, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики. Косвенным подтверждением факта ВУИ инфицирования плода развития является обнаружение вирусоспецифических AT-IgM в сыворотке/плазме пуповинной крови. Проведение данного исследования возможно только начиная с 22 недели гестации, 60–70%. Результаты диагностическая чувствительность пренатального исследования амниотической жидкости на наличие ДНК возбудителя методом ПЦР у беременных с первичной или активной вторичной ЦМВИ определяют тактику ведения беременности и позволяет с наибольшей достоверностью решить вопрос о ее пролонгации или прерывании Междисциплинарная группа экспертов по врожденной ЦМВИ (European Congenital Cytomegalovirus Initiative; ECCI)

рекомендует для подтверждения ЦМВИ плода проводить ПЦР-исследование образца амниотической жидкости, взятого на 17-й неделе гестации, при условии, что материнская инфекция произошла как минимум на 8 недель ранее [6].

При анализе результатов ПЦР-исследования необходимо учитывать, что если заражение плода ЦМВ подтверждено присутствием специфической ДНК в амниотической жидкости или пуповинной крови, а после рождения ребенка в течение первых 7 дней — в любой биологической жидкости, то наличие ДНК ЦМВ в крови детей первых месяцев жизни является лабораторным подтверждением манифестной ЦМВИ.

Дифференциальная диагностика. Дифференциальную диагностику ЦМВИ проводят с токсоплазмозом, листериозом, сифилисом, краснухой, герпетической инфекцией, инфекцией, вызванной ВЭБ; парвовирусной инфекцией. У больных с иммунодефицитом: пневмоцистной пневмонией, туберкулезом, токсоплазмозом, пневмонией, герпетической микоплазменной микозами, инфекцией, бактериальным сепсисом, лимфопролиферативными заболеваниями, ВИЧэнцефалитом, нейросифилисом, прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией.

1.4 Инфекции, вызванные Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b

Вирусы *R.humanbeta6a* (вирус герпеса человека 6а, ВГЧ-6а) и *R.humanbeta6b* (вирус герпеса человека 6b, ВГЧ-6b) относятся к семейству *Orthoherpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Roseolovirus* [141,142] и являются ближайшими генетическими родственниками *C.humanbeta5* (ЦМВ) и *R.humanbeta7* (ВГЧ-7). Известна высокая патогенетическая значимость ВГЧ-6а/b (общепринятое название, используемое для представления научных данных одновременно для двух уникальных видов) [143]; инфекция, индуцированная ВГЧ-6а, наблюдается реже, чем ВГЧ-6b.

ВГЧ-6а/b впервые выделен в 1986 г. в США из лейкоцитов крови больных с лимфопролиферативными заболеваниями и назван В-лимфотропным вирусом человека (HBLV) [144]. В дальнейшем вирус был переименован в ВГЧ-6 (HHV-6) [145]. После проведения дополнительных исследований, на основании различий по клеточному тропизму *in vitro*, рестрикционному эндонуклеазному профилю, нуклеотидной последовательности, реактивности с моноклональными АТ, причастности к разным заболеваниям и чувствительности к этиотропной противовирусной терапии [146,147,148,149,150,151] выделено 2 типа ВГЧ-6: А и В. Согласно международной классификации, ратифицированной в 2012 г., ВГЧ-6а и ВГЧ-6b являются самостоятельными таксономическими единицами [152].

Вирион как ВГЧ-6а, так и ВГЧ-6b по строению сходен с остальными вирусами герпеса человека: сферической формы, наружная оболочка пронизана гликопротеиновыми шипами, сформированными белками внутреннего слоя 162 ядерной мембраны. Икосаэдрический нуклеокапсид ИЗ капсомер, организованный по типу кубической симметрии, окружен аморфным тегументом [41]. Геном представлен линейной ДНК, состоящей из уникального региона (U), заключенного между одинаковыми прямыми повторами – DR_L и DR_R (рисунок 1.2). DR_L, DR_R содержат последовательности, участвующие в расщеплении и упаковке генома вирусов (Рас1 и Рас2), а также два участка, комплементарных теломерным повторам хромосомы человека (TRS – telomere-repeat-like sequences) – GGGTTA. Общее количество белков, кодируемых открытыми рамками считывания (ORFs), составляет от 110 до 120 [153,154]. Нуклеотидные последовательности ВГЧ-6а и ВГЧ-6b совпадают на 94% [155].



Рисунок 1.2 – Схематическое строение генома вируса герпеса человека 6a/b (по G. Dominguez et al. (1999) [153] с изменениями) [156]

Оба вируса проявляют тропизм к широкому спектру клеток хозяина: клетки иммунной системы, включая CD4+ T-клетки, CD8+ T-клетки и NK-клетки, нервной системы (астроциты, микроглиальные клетки, олигодендроциты, нейроны), печени, эпителиальные и эндотелиальные клетки, фибробласты [157,158]. Их обнаруживают В лимфоцитах и крови, макрофагах; тканях моноцитах лимфатических узлов, почек, головного мозга, слюнных желез [154]. При этом, ВГЧ-6а и ВГЧ-6b используют разные клеточные рецепторы для проникновения в клетку. ВГЧ-6а - CD46, а ВГЧ-6b - преимущественно CD134 рецепторы [159,160,161,162]. Для ВГЧ-6а/b, как и для других герпесвирусов, характерна персистенции способность И латентному пребыванию организме инфицированного человека [157]. Установлено, ВГЧ-6а/b способен ЧТО эффективно интегрировать в теломеры хромосом клетки-хозяина во время латентной фазы вместо образования эписомы с потенциалом последующей репликации [154,163,164]. Успешная интеграция геномов как ВГЧ-6а, так и ВГЧ-6b происходит независимо друг от друга благодаря гомологичной рекомбинации между повторяющимися концевыми нуклеотидными последовательностями вирусной ДНК и субтеломерной/теломерной области хромосом человека. Реактивация может происходить в головном мозге, легких, сердце, почках и желудочно-кишечном тракте особенно на фоне дизрегуляции иммунной системы. Представлены данные о способности реактивации вирусов обоих видов у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток [165,166,167] и солидных органов [168,169] с повышенным риском развития осложнений в посттрансплантационный период. Интеграция возможна не только в соматические, но и в половые клетки. Это может привести к наследованию от поколения к поколению: от одного или обоих родителей с 50% вероятностью на каждого новорожденного [170]. Данное состояние получило название наследуемый хромосомно-интегрированный ВГЧ-6а/b (хиВГЧ-6а/b), передаваемый по наследству; явление описано как для ВГЧ-6а, так и для ВГЧ-6b [163,171]. В этом случае геном вируса обнаруживается в каждой ядросодержащей клетке организма хозяина в соотношении не менее 1:1. Геном хромосомно-интегрированного вируса, переданного по наследству, в большинстве

случаев содержит полный набор интактных вирусных генов и поэтому обладает способностью к экспрессии и реактивации [172,173,174]. В мире около 1% населения, что составляет ~77 млн. человек, являются носителями хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству [162]. Показано *in vitro* отсутствие влияния длины теломер хозяина на эффективность интеграции ВГЧ-6а [163]. Основные сайты интеграции: 9q, 10q, 13q, 17p, 18q, 19q, 22q (аутосомные хромосомы), Хр и Үр (половые хромосомы) [175,176].

В настоящее время ВГЧ-6а остается менее охарактеризован, чем ВГЧ-6b. ВГЧ-6b значительно чаще, чем ВГЧ-6a, вызывает острые инфекции у детей (внезапная экзантема, лихорадка без сыпи), а также ассоциирован с фебрильными судорогами и височной эпилепсией [154,158,162,177,178]. ВГЧ-6а долгое время не был связан с каким-либо заболеванием человека, однако в последствии показана его роль развитии рассеянного склероза [179,180,181]. ДНК ВГЧ-6а обнаружена в 72% случаев в тканевом материале глиальных опухолей головного мозга у детей [182]. Представлены данные о связи ВГЧ-6a с тиреоидитом Хашимото и синцитиально-гигантоклеточным гепатитом у пациентов после трансплантации печени [183,184].

Роль хиВГЧ-6а/ь, передаваемого по наследству, в развитии патологии человека предстоит еще полностью оценить. Показано, что существуют определенные предпосылки для формирования соматической патологии у индивидуумов с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом [162,185]. Интеграция ВГЧба/в в субтеломерную/теломерную область хромосомы хозяина может изменять транскрипцию субтеломерных генов и способствовать укорочению теломер, что в свою очередь может быть причиной преждевременного старения или клеточного [186,187]. апоптоза Представлен исследований, ряд демонстрирующих взаимосвязь укорочения теломеры хромосом с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [188,189]. Так, индивидуумы с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом имеют в 3,3 раза выше риск развития стенокардии [190]. Установлена взаимосвязь между наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом пациента и развитием сердечной недостаточности, миокардита [191,192], а также бесплодием и повышенным

[193]. He риском преэклампсии исключается возможность реактивации наследуемого хиВГЧ-6а/b с последующим негативным влиянием на организм [194,195]. зарубежных человека Согласно данным исследователей, лекарственных препаратов и химических веществ (ингибиторы гистондеацетилаз, гидрокортизон, высокие дозы прогестерона и др.) могут прямо или косвенно способствовать реактивации эндогенного хромосомно-интегрированного вируса [185,196].

Имеют место географические различия в распространенности ВГЧ-6а и ВГЧ-6b, хотя возможна и их одновременная циркуляция [197,198,199]. ВГЧ-6а менее, чем ВГЧ-6b распространен в Японии, Северной Америке и Европе [170]. Представлены данные о доминировании ВГЧ-6а среди детей в возрасте 18-месяцев в странах Африки к югу от Сахары [197]. На текущий момент превалирующий вид на территории Российской Федерации достоверно не определен. Так, по данным М. Ю. Лысенковой с соавт. (2018) описано выявление ВГЧ-6а и ВГЧ-6b у детей с ОРВИ со сходной частотой (55,5% и 42,2% соответственно), а у клинически здоровых детей – преобладание ВГЧ-6b (85,7%) [200]. Согласно результатам, представленным М. А. Никольским с соавт. (2019), при обследовании пациентов в возрасте от 1 года до 55 лет с клиническими признаками и/или лабораторными маркерами ВГЧ-6а/b-инфекции в трех клинических центрах города Санкт-Петербурга в феврале 2015 – апреле 2016 гг. (n=200) определен ВГЧ-6b в 100% случаев [201]. По данным исследования Н. С. Тян (2024), выполненного так же в городе Санкт-Петербурге, у детей с ВГЧ-6а/b-инфекцией вне зависимости от нозологической формы заболевания ВГЧ-6b являлся доминирующим видом, ВГЧба регистрировался крайне редко, как и сочетанное инфицирование ВГЧ-ба и ВГЧ-6b [197].

Инкубационный период заболевания составляет от 5 до 15 дней. Источником и резервуаром инфекции является человек. Как правило, инфицирование ВГЧ-6b происходит на первом или втором году жизни, ВГЧ-6а — несколько позднее. Около 95% людей старше двух лет имеют специфические АТ к АГ ВГЧ-6а/b [179]. По данным российских исследований, у 80% доноров крови, 65% ВИЧ-

инфицированных лиц и 73% онкологических больных выявляются вирусоспецифические АТ [202].

Основной путь передачи ВГЧ-6а/b – воздушно-капельный. Также возможен: контактно-бытовой, половой, трансплантационный, трансплацентарный. ВГЧ-6а/b-инфекция Врожденная может возникнуть В результате трансплацентарной передачи экзогенного вируса плоду от матери при первичной инфекции, реактивации или путем наследственной передачи хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b (эндогенного) [170]. При этом 86% врожденных ВГЧ-6а/b-инфекций связаны именно с наследственной передачей хромосомно-интегрированного вируса [40], около 1/3 части которых обусловлена наследуемым хиВГЧ-6а [170]. Среди 14% ВГЧ-6а/b-инфекций, реализовавшихся врожденных В результате трансплацентарной передачи экзогенного вируса, 83% приходится на ВГЧ-6b. Согласно представленным данным, внутриутробная ВГЧ-6а/b-инфекция в редких случаях приводит к спонтанному аборту в первом триместре беременности [203], неимунной водянке плода [34], миокардиту [35], фульминантному гепатиту [33], поражению ЦНС [36]. На текущий момент, в научной литературе доступны немногочисленные работы, посвященные изучению врожденной ВГЧ-6а/bинфекции, в большинстве которых исследователи не исключали возможность наследственной передачи хромосомно-интегрированного вируса [204]. В этой связи роль ВГЧ-6а и ВГЧ-6b в развитии перинатальной патологии требует уточнения.

Принимая во внимание особенности инфекций, вызванных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* (длительное латентное существование возбудителя в организме хозяина после перенесенных острых форм, в том числе сочетанное; возможность периодической реактивации; наследуемая хромосомная интеграция), для идентификации этиопатогенетически значимого агента (вируса), установления стадии, формы и активности развития инфекционного процесса необходимо использовать и прямые, и непрямые (косвенные) методы лабораторной диагностики [150,157,205].

Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики, показания к применению различных лабораторных исследований и интерпретация их результатов у разных категорий обследуемых. Основные методы лабораторной диагностики ВГЧ-6а/b-инфекции представлены в таблице 1.1. Выделение возбудителя в культуре клеток с помощью вирусологического метода в настоящее время для рутинной диагностики инфекции, вызванной ВГЧ-6а/b, не применяется ввиду низкой чувствительности, трудоемкости, длительности исполнения и необходимости соблюдения определенных условий проведения исследований [206].

Для выявления специфических AT-IgG, AT-IgM к AГ ВГЧ-6а/b сыворотке/плазме крови используют преимущественно ИФА. Определение AT вирусоспецифических может быть выполнено качественном количественном формате. Вирусоспецифические AT-IgM появляются в крови на 4— 7 сутки от начала болезни, достигая максимального уровня через 2-3 недели, и могут выявляться в течение 1–2 месяцев. Специфические AT-IgM к AГ вирусов также могут быть обнаружены при реактивации. Вирусоспецифические AT-IgG появляются в крови на 7–10 сутки болезни и сохраняются пожизненно. Выявление вирусоспецифических AT-IgG в количественном формате позволяет провести динамическое наблюдение, оценить состояние постинфекционного иммунитета, обнаружение вирусоспецифических AT-IgM – установить диагноз текущей Лабораторным первичной инфекции или реактивацию. подтверждением первичной инфекции является выявление вирусоспецифических AT-IgM и/или переход отрицательного результата в положительный (сероконверсия) при обнаружении вирусоспецифических AT-IgG или 4-кратное и более увеличение их концентрации во втором образце (при условии, что тестирование парных сывороток крови проведено одновременно в одном опыте и второй образец был получен не менее чем через 14 дней после первого) [206].

Таблица 1.1 – Этиологическая лабораторная диагностика инфекций, вызванных Roseolovirus humanbeta6a и R.humanbeta6b (по Н. Agut et al., 2017 [150] с изменениями)

Комментарии	сложная интерпретация в случае реактивации и/или иммунодефицита; отсутствие возможности	видовой дифференциации; ложноположительные	результаты, обусловленные возможностью кросс-	реакций с АТ к АГ других вирусов герпеса	человека	эталонный метод, но трудоемкий, дорогостоящий и	технически сложный; отсутствие возможности	видовой дифференциации; низкая	чувствительность	низкая чувствительность; ограниченная	доступность эталонных стандартов антител		не позволяет провести дифференциацию между	латентной и активной инфекциями, активной	инфекцией и наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом		
Назначение	диагностика первичной инфекции; определение	наличия специфических	AT κ A Γ B Γ Y-6a/b			выявление активной	инфекции с продукцией	вируса		выявление активной	инфекции с экспрессией	вирусных генов	выявление генетического	материала вируса в	биологических средах и	тканевом материале	ХОЗЯИНА
Аналит	вирусоспецифические AT- IgM, вирусоспецифические	AT-IgG, авидность	вирусоспецифических АТ-	IgG		R.humanbeta6a,	R.humanbeta6b			AF R.humanbeta6a,	R.humanbeta6b		ДНК R.humanbetaба,	R.humanbeta6b	(качественный формат)		
Метод	иммунохимический: ИФА, ХЛИА					вирусологический:	выделение <i>R.humanbeta6a</i> ,	<i>R.humanbeta6b</i> в культуре	КЛЕТОК	иммунохимический:	РНИФ, ХЛИА		молекулярно-	биологический: ПЦР			
	ОДЫ	тэм э	HHPI	осве	K					ЮΊΡΙ	мето	MPIG	ırqL	I			

Продолжение таблицы 1.1

Комментарии	необходимость стандартизации (международный	стандарт); при интерпретации результатов	необходимо учитывать пороговые значения при	дифференциации активной ВГЧ-6а/b-инфекции	и/или наследуемой хромосомной интеграции		использование ограничено; необходимость	стандартизации				использование ограничено; необходимость	стандартизации				
Назначение	определение степени	активности	инфекционного процесса,	эффективности	проводимой этиотропной	противовирусной терапии	точная количественная	оценка ДНК;	идентификация	наследуемой	хромосомной интеграции	дифференциальная	диагностика латентной и	активной инфекции;	выявление реактивации	при наследуемой	хромосомной интеграции
Аналит	ДНК R.humanbetaба,	R.humanbeta6b	(количественный формат)				ДНК R.humanbetaба,	R.humanbeta6b	(количественный формат)			PHK R.humanbeta6a,	R.humanbeta6b	(качественный /	количественный формат)		
Метод	молекулярно-	биологический: ПЦР					молекулярно-	биологический: цифровая	капельная ПЦР			молекулярно-	биологический: ОТ-ШЦР				
							Ic	ндот	е ме	IAMR	dЦ						

Продолжение таблицы 1.1

Метод Аналит Аналит молекулярно- нуклеотидная	Аналит нуклеотидная		Назначение использование в	Комментарии использование методики полногеномного
биологический: метод последовательность ДНК	последовательность ДНК		молекулярной	секвенирования ограничено ввиду высокой
прямого секвенирования R.humanbeta6a,	R.humanbeta6a,		эпидемиологии;	стоимости; необходимость стандартизации
нуклеотидных <i>R.humanbeta6b</i>	R.humanbeta6b		выявление генов	
последовательностей (по			резистентности к	
Сэнгеру); полногеномное			этиотропной	
секвенирование про	оdп	одп	противовирусной терапии	

Однако не у всех детей с первичной инфекцией, вызванной ВГЧ-6а/b, отмечается продукция вирусоспецифических АТ-IgM, а у 5% взрослых они выявляются постоянно [205]. Известны затруднения в расшифровке полученных результатов косвенных методов лабораторной диагностики, связанные с медленным увеличением концентрации АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b при первичной инфекции и перекрестной реактивностью между различными представителями подсемейства *Веtaherpesvirinae* [154].

В настоящее время основным общепризнанным методом этиологической $B\Gamma \Psi$ -6а/b, диагностики инфекции, вызванной является количественное определение ДНК вируса в образцах цельной крови, других биологических жидкостей и тканевого материала методом ПЦР-РВ [207]. Преимуществом метода ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации для выявления и количественного определения ДНК ВГЧ-6а/в являются высокие показатели его диагностической чувствительности и специфичности, возможность исследования практически любого вида биологического материала, воспроизводимость полученных результатов, а также быстрота исполнения. Данный метод независим от иммунологического статуса обследуемого пациента. Неоспоримым достоинством использования молекулярно-биологических методов является возможность дифференцирования уникальных видов ВГЧ-6а и ВГЧ-6b как в качественном, так и количественном форматах [208,209,210]. Результаты определения ДНК ВГЧ-6а/b в количественном формате позволяют провести динамическое наблюдение: на основании увеличения концентрации в венозной крови, лейкоцитах венозной крови, плазме венозной крови, спинномозговой жидкости, отделяемом из ротоглотки установить активность инфекционного процесса, выявить реактивацию, оценить эффективность проводимой этиотропной противовирусной терапии. Установлено, что у детей для диагностики активных форм ВГЧ-6а/b-инфекции, требующих проведения противовирусной терапии, наиболее значимым является обнаружение ДНК в образцах крови в концентрации 100~ копий/ $10^5~$ клеток и более и/или в мазке из ротоглотки в количестве $10^5~$ копий/мл и более [175].

Для хиВГЧ-6а/b выявления пациентов c наследуемым показано использование ПЦР-РВ в количественном формате или метод флуоресцентной гибридизации in situ [185,211]. Концентрация специфической ДНК >5,5 lg копий/мл в образцах цельной крови, сохраняющаяся с течением времени, у пациентов без клинических признаков активной инфекции в подавляющем большинстве случаев позволяет заподозрить наличие наследуемого хиВГЧ-6а/bстатуса [185]. Установлено, что обнаружение ДНК ВГЧ-6а/в в образцах волосяных фолликулов или ногтевых пластин подтверждает наличие эндогенной формы вируса [185,211,212,213,214]. Для расшифровки случаев наследственной передачи проводят обследование ближайших родственников: биологических родителей пациента (по крайней мере один из двух будет иметь хиВГЧ-6а/b-статус, передаваемый по наследству), родных братьев или сестер [185].

Дифференциальная диагностика. Дифференциальную диагностику инфекций, вызванных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* проводят с аденовирусной инфекцией, энтеровирусной инфекцией, инфекционной эритемой, внезапной экзантемой, вызванной ВГЧ-7, инфекционным мононуклеозом, краснухой, корью, скарлатиной, ЦМВБ, врожденной ЦМВИ, розовым лишаем, лекарственной экзантемой, токсикодермией и др.

Таким образом, широкая распространенность возбудителей ToRCHинфекций среди различных групп населения в популяции, полиморфизм клинических проявлений и наличие бессимптомных форм, высокий риск развития новорожденного патологии плода или при первичном инфицировании/инвазировании женщины во время беременности (токсоплазмоз, краснуха, ЦМВИ), возможность реактивации при латентной инфекции (ЦМВИ) у беременных с потенциальным риском внутриутробного заражения плода и неблагоприятного беременности обуславливает целесообразность исхода внедрения в комплекс современной диагностики специальных лабораторных обладающих качественно более высоким уровнем клинической методов, информативности. Оптимальная схема диагностики ToRCH-инфекций должна включать в себя современные молекулярно-биологические методы (ПЦР-РВ, ОТ-

ПЦР-РВ и др.), позволяющие своевременно, в кратчайшие сроки выявить этиопатогенетически значимый патоген, и, при необходимости, определить степень активности развития инфекционного процесса. Роль *R.humanbeta6a R.humanbeta6b* в развитии ВУИ и врожденной патологии требует уточнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научноисследовательских работ ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, носило комплексный, многолетний (2005–2024 гг.) характер.

Исследование проведено в соответствии с международными этическими нормами, законодательством Российской Федерации, нормативными документами ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, при наличии письменного согласия пациентов в рамках выполнения федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с заболеваниями социального характера» (2002–2006) гг.) подпрограммы «Вакцинопрофилактика» (постановление Правительства Российской Федерации от 13.11.2001 г. №790), тем НИР: «Разработка новых технологий, средств и методов молекулярной диагностики инфекционных болезней» (номер государственного учета НИОКТР АААА-А16-116092650023-3, 2016–2020 гг.), «Совершенствование срок исполнения методов эпидемиологического мониторинга за внутриутробными, оппортунистическими и инфекциями папилломавирусной с использованием новых диагностических схем выявления их возбудителей» (номер государственного учета НИОКТР АААА-А21-121011990055-2, срок исполнения 2021–2025 гг.).

Для достижения цели и решения поставленных задач использованы следующие методы исследования:

- эпидемиологический;
- молекулярно-биологический;
- биоинформатический;
- вирусологический;
- иммунохимический;

- экспертных оценок;
- экономического анализа;
- статистический.

2.1 Дизайн и материалы исследования

Диссертационное исследование включало шесть этапов, обобщенно представленных в таблице 2.1.

Для разработки методики, предназначенной для качественного определения ДНК возбудителя токсоплазмоза в биологическом материале методом ПЦР-РВ, использовали чистую культуру *T.gondii* штамм RH (генотип I) с концентрацией $5x10^7$ тахизоитов/мл, предоставленную заведующим лаборатории протозойных инфекций ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, кандидатом биологических наук Д.Б. Гончаровым.

Для разработки методики, предназначенной для качественного определения РНК вируса краснухи в биологическом материале методом ОТ-ПЦР-РВ, применяли живой аттенуированный вакцинный штамм R.rubellae Wistar RA 27/3M (Pasteur Merieux Connaught, Франция), ЦПД₅₀ не менее 1000/0,5 мл.

Для разработки методики, предназначенной для качественного количественного определения ДНК ВГЧ-6а и ВГЧ-6b (одновременно двух видов) в биологическом материале методом ПЦР-РВ, использовали клинические изоляты $5x10^{5}$ R.humanbeta6a R.humanbeta6b (концентрация копий ДНК/мл), выделенные от пациентов (девочка, мальчик в возрасте 3 и 2,5 года B27.0 Мононуклеоз, соответственно) диагнозом вызванный герпетическим вирусом в марте 2007 г. в городе Москве. Видовая принадлежность прямого вирусов подтверждена методом секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру).

Таблица 2.1 – Общая характеристика основных этапов, материалов и методов исследования

Направление исследования	Период, год	Материалы	Количество	Методы
1. Анализ динамики уровня	2007–2023	материалы государственных докладов «О	17 докладов	эпидемиологический
и структуры заболеваемости		состоянии санитарно-эпидемиологического		(ретроспективное
инфекциями ТоRCH-группы		благополучия населения в Российской		описательное
в Российской Федерации		Федерации»		эпидемиологическое
		данные формы федерального статистического	47 форм	исследование);
		наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и	85 991	статистический
		паразитарных заболеваниях» (годовая)	наблюдений	(Microsoft Excel
		данные формы федерального статистического	17 форм	(Windows 10), IBM SPSS
		наблюдения №5 «Сведения о профилактических	41 750 464	Statistics)
		прививках» (годовая)	наблюдений	
		данные формы федерального статистического	17 форм	
		наблюдения №6 «Сведения о контингентах детей,	41 750 464	
		подростков и взрослых, привитых против	наблюдений	
		инфекционных заболеваний» (годовая)		
		нормативно-правовые акты, регламентирующие	20	
		организацию федеральной и отраслевой	источников	
		статистической отчетности по инфекциям		
		ТоRСН-группы		

Продолжение таблицы 2.1

Направление исследования	Период, год	Материалы	Количество	Методы
		информационно-аналитические материалы о	10	
		заболеваемости изучаемыми инфекциями на	источников	
		территории города Москвы и Московской области		
		информационно-аналитические материалы ВОЗ по	7 источников	
		инфекциям ТоRCH-группы		
2. Разработка, валидация и	2007–2019	штаммы, клинические изоляты микроорганизмов,	55 образцов	молекулярно-
апробация методик		геномная ДНК человека и животных, СОП,		биологический
качественного и		международный стандарт ВОЗ		(ШІР-РВ, ОТ-ШІР-РВ,
количественного		панели контрольных образцов для внутренней и	2 панели	метод прямого
определения нуклеиновых		внешней оценки качества проводимых		секвенирования
кислот возбудителей		исследований		нуклеотидных
инфекций ТоRCH-группы на		образцы 13 видов биологического материала	12 610	последовательностей
основе ПЦР		(цельная венозная, пуповинная кровь; лейкоциты	образцов	(по Сэнгеру)),
		венозной, пуповинной крови; плазма венозной,		вирусологический,
		пуповинной крови; мазки со слизистой оболочки		статистический
		носо- и ротоглотки; мазки со слизистой оболочки		(MedCalc® statistical
		ротоглотки; слюна; моча; спинномозговая		software, Microsoft
		жидкость; амниотическая жидкость; тканевой		Excel (Windows 10),
		(биопсийный, аутопсийный, операционный)		IBM SPSS Statistics)
		материал)		

Продолжение таблицы 2.1

Направление	Период	Материалы	Количество	Методы
	исследования,			
	год			
		результаты опытно-конструкторской работы	>700	
		(подбор условий проведения реакции, определение	эксперимен-	
		аналитических характеристик, оценка	TOB	
		повторяемости, воспроизводимости, правильности		
		и др.)		
3. Оценка эффективности	2007–2014	образцы биологического материала (цельная	>1000	молекулярно-
применения методик		венозная и пуповинная кровь, амниотическая	лабораторных	биологический (ШЦР-РВ,
качественного и		жидкость, слюна, мазки со слизистой оболочки	анализов	ОТ-ШЦР-РВ, метод
количественного		носо- и ротоглотки) пациентов с краснухой и		прямого секвенирования
определения нуклеиновых		другими экзантемными заболеваниями, доноров		нуклеотидных
кислот возбудителей		крови, беременных, новорожденных, детей		последовательностей по
инфекций ТоRCH-группы на		грудного возраста с перинатальным поражением		(Сэнгеру)),
основе ПЦР и алгоритмов их		ЦНС и клинически здоровых		иммунохимический
использования				(ИФА, ХЛИА)
				статистический
				(MedCalc® statistical
				software, Microsoft Excel
				(Windows 10), IBM SPSS
				Statistics)

Продолжение таблицы 2.1

Направление исследования	Период, год	Материалы	Количество	Методы
4. Разработка методических	2017–2022	образцы биологического материала (цельная	4456	молекулярно-
подходов к определению		венозная кровь (n=1232), плазма венозной крови	образцов	биологический (ПЦР-РВ,
этиологической роли		(n=628), сыворотка венозной крови (n=1232), мазок		метод прямого
R. humanbeta6a/b в развитии		со слизистой оболочки ротоглотки (n=155), моча		секвенирования
внутриутробной инфекции и		(n=145), спинномозговая жидкость (n=7),		нуклеотидных
врожденной патологии		волосяные фолликулы (n=404), ногтевые пластины		последовательностей (по
		(n=653))		Сэнгеру), массовое
		результаты опытно-конструкторской работы	>300	параплельное
			эксперимен-	секвенирование),
			TOB	иммунохимический
				(ИФА),
				биоинформатический,
				статистический
				(Microsoft Excel
				(Windows 10), IBM SPSS
				Statistics)
5. Оптимизация мониторинга	2020–2022	экспертные анкеты	5 анкет	эпидемиологический,
этиологической структуры		наименования лекарственных препаратов по МНН	882	метод экспертных
ТоRСН-инфекций на основе		(n=55), клинико-лабораторных исследований	показателя	оценок, экономический
применения молекулярно-		(n=88), инструментальных обследований и других		анализ, статистический
		медицинских мероприятий (n=13)		

Продолжение таблицы 2.1

Направление исследования	Период, год	Материалы	Количество	Методы
биологических методов и		данные формы федерального статистического	1 форма	(Microsoft Excel
оценка экономической		наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и	25 753	(Windows 10))
целесообразности внедрения		паразитарных заболеваниях» (годовая) за 2020 г.	наблюдений	
современных		данные о Государственных закупках в сфере	217 тендеров	
диагностических решений		здравоохранения (2020 г.)		
		данные Приложения №7 к Тарифному	114	
		соглашению на 2020 г. Московского городского	показателей	
		фонда обязательного медицинского страхования		
6. Совершенствование	2023	обобщенные результаты исследования,		описательный
эпидемиологического		полученные на этапах 1–5		
надзора за инфекциями				
ТоRCH-группы с				
использованием				
современных				
диагностических решений на				
основе молекулярно-				
биологических методов				

Для проверки аналитической специфичности методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ использовали ДНК, РНК 30 видов микроорганизмов (концентрация 10^4 – 10^7 копий/мл), представленных в приложении A, таблица A.1, а также ДНК *Homo sapiens* производства Sigma-Aldrich (США) и 11 видов животных с концентрацией 0,2 мг/мл (приложение A, таблица A.2).

Для определения диагностических характеристик, оценки эффективности применения методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ и алгоритмов их использования исследовали биологический материал, полученный от пациентов с подтвержденным диагнозом или подозрением на патологию, вызванную *T.gondii*, *R.rubellae*, *R.humanbeta6a*, *R.humanbeta6b*; клинически здоровых лиц, условноздоровых доноров крови и пациентов с соматической патологией при отсутствии клинических проявлений острого инфекционного заболевания. При разработке методических подходов к определению этиологической роли *R.humanbeta6a/b* в развитии ВУИ и врожденной патологии дополнительно тестировали образцы волосяных фолликулов и ногтевых пластин пациентов с наследуемым хромосомно-интегрированным *R.humanbeta6a* или *R.humanbeta6b*, а также их ближайших родственников.

Сбор образцов биологического материала проведен на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ГБУЗМ Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова ДЗМ, ГБУЗ «ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ», ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ, ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ», ГБУЗ «НПЦ ДП ДЗМ».

Для определения расчетного числа случаев наследуемого хиВГЧ-6а/b у новорожденных использованы данные статистического учета о числе зарегистрированных случаев ВУИ в родильных домах, акушерских стационарах (отделениях) в городе Москве в 2020 г. [форма федерального государственного статистического наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (2020 г.)], отечественные и зарубежные научные данные по распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b. Для расчетов затрат на лекарственное обеспечение в зависимости от степени тяжести заболевания использовали маркетинговые данные по

минимальной стоимости лекарственных препаратов ДЛЯ медицинского зарегистрированных на территории Российской применения, Федерации, установленные на основании реализованных контрактов по проведенным государственным закупкам в лечебно-профилактических учреждениях города Москвы за 2020 г. [215]. Для расчета затрат на клинико-лабораторное, инструментальное обследование и другие медицинские мероприятия использовали данные тарифного соглашения на 2020 г. Московского городского фонда обязательного медицинского страхования [216]. Обобщенное описание материалов исследования согласно этапам, представлено в таблице 2.1.

2.2 Методы исследования

Эпидемиологический метод исследования. Методологической основой исследования послужили труды отечественных ученых В. Д. Белякова [217], Б. Л. Черкасского [218] и В. И. Покровского [219,220] в области эпидемиологии. В работе использованы описательно-оценочные (статистическое наблюдение, основанное на изучении отчетно-учетной документации) и аналитические эпидемиологические приемы, включающие ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости инфекциями ТоRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, ЦМВИ) с определением динамики, уровня, структуры и территориального распределения заболеваемости, смертности в Российской Федерации. Изучены данные по заболеваемости, смертности, предоставленные территориальными органами Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в следующие временные периоды:

- краснуха, СВК с 2007 по 2023 гг.;
- токсоплазмоз, ЦМВБ, врожденная ЦМВИ с 2009 по 2023 гг.

Для определения интенсивности эпидемического процесса рассчитана заболеваемость, как относительная частота впервые выявленных подтвержденных случаев заболевания населения краснухой, СВК, токсоплазмозом, ЦМВБ,

врожденной ЦМВИ на 100 тыс. человек с учетом численности населения в анализируемый временной период наблюдения согласно формуле:

Заболеваемость =
$$\frac{\text{Число подтвержденных случаев}}{\text{Численность населения}}$$
 х 100 000 (0 / $_{0000}$)

Смертность рассчитана, как относительная частота летальных случаев от краснухи, СВК, токсоплазмоза, ЦМВБ, врожденной ЦМВИ на 100 тыс. человек с учетом численности населения в анализируемый промежуток времени согласно формуле:

Распределение целого на составляющие его части по их удельному весу (экстенсивные показатели) рассчитано согласно формуле:

Для определения изменений заболеваемости инфекциями ТоRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, ЦМВИ) в анализируемый промежуток времени и количественной оценки направленности их развития использовали показатели: абсолютный прирост/убыль ($^{0}/_{0000}$), показатель роста/снижения (%), темп роста/убыли (%). Абсолютный прирост/убыль рассчитан, как разность между последующим и предыдущим уровнем. Показатель роста/снижения — доля

последующего уровня от предыдущего. Темп прироста/убыли — на сколько увеличился/снизился последующий уровень по сравнению с предыдущим.

Для расчета темпа прироста/убыли использовалась формула:

Построение линии тренда проводили с помощью программы Microsoft Excel (Windows 10) согласно формуле:

$$y=ax+b$$
,

где

- а коэффициент наклона линии аппроксимации;
- х нумерация временных отрезков наблюдения;
- b ожидаемый показатель заболеваемости, согласно уровню аппроксимации, при x=0.

(2.5)

Молекулярно-биологический и биоинформатический методы. Лабораторные исследования проведены с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» [101], СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» [221] и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности» [222].

Сбор, предварительную обработку, хранение, транспортировку образцов биологического материала для последующего лабораторного исследования с использованием МАНК выполняли согласно методическим рекомендациям, разработанным в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора [223].

Экстракцию ДНК, РНК ИЗ штаммов И клинических изолятов микроорганизмов, геномной ДНК человека и животных, образцов исследуемого биологического материала проводили при помощи методик сорбционного и преципитационного методов, в том числе с использованием комплектов реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» по ТУ 9398-004-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03993 от 22 февраля 2019 года), «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 августа 2021 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот «ПРОБА-НК» по ТУ 9398-035-46482062-2009 производства ООО «НПО ДНК-Технология, Российская Федерация (РУ № ФСР 2010/08867 от 13 октября 2016 года) согласно инструкциям производителей.

При подборе олигонуклеотидных праймеров и зондов с флуоресцентной меткой типа «ТаqMan» для идентификации ДНК или РНК определяемых патогенов использовали международную базу данных NCBI [224] и программу BLAST [225]. Анализ молекулярной структуры олигонуклеотидных праймеров и зондов с флуоресцентной меткой типа «ТадМап» для идентификации ДНК или РНК определяемых патогенов проведена с помощью компьютерной программы Oligo Analyzer версия 3.1 (Integrated DNA Technologies, Inc., США). При оценке комплементарности искомых мишеней нуклеиновых кислот микроорганизмов известными нуклеотидными последовательностями микро- и макроорганизмов использовали международную базу данных NCBI [224]. Химический синтез праймеров, олигонуклеотидных флуоресцентно-меченных красителями олигонуклеотидных зондов типа «TaqMan» осуществлен ООО «НПФ Синтол» (Российская Федерация). Ориентировочные температуры плавления, отжига рассчитывали с использованием компьютерной программы Oligonucleotide

Properties Calculator [226].

Экспериментально подобранный состав реакционных смесей для выполнения реакции амплификации включал в себя следующие компоненты: олигонуклеотидные праймеры, олигонуклеотидные зонды с флуоресцентной меткой типа «ТаqМаn», дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, буфер, ферменты (ТаqF-полимераза при идентификации ДНК/РНК, обратная транскриптаза ТМ-ревертаза (М-MLV) при идентификации РНК), очищенная нуклеиновая кислота.

Программа амплификации представляла собой трехстадийный циклический процесс, состоящий из определенных этапов (денатурация, отжиг, элонгация), различающихся между собой по температурному режиму и продолжительности проведения. Температурные и временные параметры выбраны экспериментальным путем. Проведение ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли на термоциклерах для амплификации нуклеиновых кислот с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени роторного типа (Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия), Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года)) и планшетного типа (СFX 96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США; РУ № ФСЗ 2008/03399), ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация; РУ № ФСР 2011/10229)) согласно инструкциям производителей.

В соответствие с разработанными параметрами интерпретацию результатов ПЦР-анализа проводили в качественном или количественном форматах.

При разработке способа экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин определение концентрации ДНК, РНК дополнительно проводили флуориметрическим методом с использованием наборов реагентов Qubit RNA HS Assay Kit, Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и флуориметра Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкциям производителя.

Клонирование рекомбинантных конструкций выполняли по В. L. Pasloske et al. [227].

Оценку аналитической специфичности, аналитической чувствительности разрабатываемых методик проводили согласно ГОСТ Р 53079.1–2008, ГОСТ Р 53022.2–2008 [228,229]. Оценку диагностической (клинической) информативности с определением чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного и отрицательного результата определяли по ГОСТ Р 53022.3–2008 [230]. Дополнительно расчитывали индекс Юдена и сводный прогнозный индекс [231].

Для подтверждения хиВГЧ-6а/b-статуса, передаваемого по наследству, при изучении распространенности эндогенных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* среди доноров крови помимо инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b использовали цифровую капельную ПЦР (QX200 Droplet Digital PCR, BioRad Laboratories, Inc., США). Реакционная смесь (V=20 мкл) содержала 11 мкл ddPCR Supermix for Probes (BioRad Laboratories Inc., США), 1 мкл эндонуклеазы рестрикции FastDigest Hind III (Thermo Fisher Scientific Inc., США), 900 пМ специфических олигонуклеотидных праймеров и 250 пМ специфических олигонуклеотидных зондов, 5,5 мкл геномной ДНК. Постановку амплификации проводили на приборе CFX 96 (РУ № ФСЗ 2008/03399, Віо-Rad Laboratories, Inc., США) согласно инструкции производителя. Условия проведения амплификации представлены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Программа амплификации, используемая при выполнении цифровой капельной ПЦР

Этап	Температура, °С	Продолжитель-	Количество
		ность	повторений
Рестрикция	37	10 мин	1
Активация полимеразы	95	10 мин	1
Денатурация ДНК	94	30 с	40
Отжиг олигонуклеотидов/элонгация	60	1 мин	40
Инактивация полимеразы	98	10 мин	1

Продолжение таблицы 2.2

Этап	Температура, °С	Продолжитель-	Количество
		ность	повторений
Охлаждение/хранение	4	≥10 мин	_

Анализ полученных результатов цифровой капельной ПЦР выполняли с использованием программы QuantaSoft версия 1.7.4.0917. К анализу принимались образцы, образовавшие от 10 000 капель. Об эндогенной форме существования вируса свидетельствовало установленное соотношение двух исследуемых мишеней β-глобинового гена человека и гена U38 ВГЧ-6а/b в исследуемой пробе равное 2,0±0,2:1.

Интеграцию генома *R.humanbeta6a* в теломерную область хромосомы методом ПЦР последующим секвенированием исследовали c нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру), используя специфические олигонуклеотидные праймеры $B\Gamma \text{Ч-6a/b}$ DR_R , 11q, 17p, 18q, комплементарные концевым участкам генома искомых вирусов и 11q, 17p, 18q хромосом человека [196]. Состав реакционной ПЦР-смеси (V=25 мкл): 10 пмоль каждого специфического олигонуклеотидного праймера, 10 мкл ПЦР-смеси-2 blue (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора), фермент (TagF-полимераза), 10 нг геномной ДНК. Программа амплификации: $95 \, ^{\circ}\text{C} - 2 \, \text{мин}$, $95 \, ^{\circ}\text{C} - 20 \, \text{c}$, $65 \, ^{\circ}\text{C} - 30 \, \text{c}$, 72 °C – 2 мин, 35 циклов. Амплификацию выполняли на термостате программируемом для проведения ПЦР-анализа четырехканальном ТП4-ПЦР-01-9452-001-46482062-98 (ООО «НПО ДНК-Технология», «Терцик» по ТУ Российская Федерация) согласно инструкции производителя. Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 1,5% агарозном геле. Для проведения реакции секвенирования применяли набор реагентов BigDyeTM Terminator kit v1.1 (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили путем сравнения с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных NCBI [224].

Полногеномное секвенирование клинических изолятов выполняли после R.humanbeta6a, обогашения R.humanbeta6b предварительного геномов панели специфических праймеров [232]. Амплификацию использованием проводили в двух отдельных реакционных смесях с температурой отжига пар специфических праймеров в диапазоне 52–56 °C (первая) и 58–62 °C (вторая). Состав реакционной смеси (V=25 мкл): 1,5 пмоль каждого праймера, 10 нг геномной ДНК образца, 5 ед. полимеразы LongAmp Taq DNA Polymerase (NEB, Великобритания), стандартную смесь (ПЦР-буфер, дНТ Φ и ионов Mg²⁺). По окончанию амплификации смесь ампликонов чистили с помощью магнитных карбоксилированных частиц, затем изготовляли библиотеки для секвенирования. Полногеномное секвенирование выполняли на платформе Miseq (Illumina, США), используя наборы реагентов MiSeq Reagent Kit v2, MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Недостающие фрагменты генома вирусов амплифицировали и секвенировали отдельно с использованием метода прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру). Полученные прочтения фильтровали по качеству и удаляли последовательности специфических праймеров и адаптеров. Достаточность объема полученных данных оценивали путем картирования прочтений на референс-геномы *R.humanbeta6a* или *R.humanbeta6b* с последующим анализом глубины секвенирования и определением процента перекрытия. Референс-геномами являлись: для *R.humanbeta6a* – эталонный экзогенный штамм U1102 (асс. X83413, длина 159378 нуклеотидов) [233], R.humanbeta6b – эталонный экзогенный штамм HST (асс. AB021506, длина 161573 нуклеотидов) [234]. При достаточном объеме данных проводили de novo сборку контигов с помощью программы Spades v3.0.15. Псевдогеном получали путем картирования собранных контигов на референс-геном и объединения ориентированных контигов поли-N-линкерами в одну последовательность. Аннотацию полученной последовательности осуществляли методом переноса аннотации с референс-генома с использованием программы PAGIT v.1.

Для сравнительного филогенетического анализа использовали известные последовательности штаммов/изолятов эндогенных и экзогенных *R.humanbeta6a*,

R.humanbeta6b, представленные в международной базе данных NCBI [224]. Филогенетическую реконструкцию выполняли путем создания объединенного нуклеотидного выравнивания на основе групп ортологичных генов при помощи программы Roary v1.001. Филогенетическое дерево строили с помощью программного обеспечения RAxML с использованием модели нуклеотидных замен с гамма-распределением по вариабельным позициям (GTR+Г). Достоверность узлов оценивали с помощью бутстрэп-анализа (1000 псевдорепликаций).

Вирусологический метод. Специфическую инфекционную активность штаммов *R.rubellae* определяли при заражении культуры клеток Vero E6 (клетки эпителия почки африканской зеленой мартышки). 10-кратные разведения (от 10^{-1} до 10^{-8}) тестируемых штаммов *R.rubellae* вносили по 200 мкл в лунки 96-луночных планшетов с монослоем культуры клеток. ЦПД вируса на клетки (10^{-1} ЦПД 100^{-1} 200 мкл) оценивали ежедневно в течение 7 дней.

Иммунохимический метод. Выявление и количественное определение вирусоспецифических AT-IgA, AT-IgM, AT-IgG, индекса авидности AT-IgG в образцах плазмы венозной и пуповинной крови выполняли методом ИФА, ХЛИА клинико-диагностической лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Использовали наборы реагентов, зарегистрированные и на территории Российской Федерации разрешенные к применению установленном законодательством порядке согласно инструкциям по применению. Постановку и последующий анализ полученных результатов проводили с использованием автоматических анализаторов Freedom EVOlyzer 200 (TECAN Schweiz AG, Швейцария), NexGen Four (Adaltis Italia S.p.A, Италия), спектрофотометра Anthos Zenyth-340st (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) руководствуясь инструкциями производителей.

Метод экспертных оценок. Применяли для определения структуры прямых медицинских затрат на стационарное лечение новорожденных при постановке диагноза инфекционных болезней, специфичных для перинатального периода: P35.0 Синдром врожденной краснухи, P35.1 Врожденная цитомегаловирусная инфекция, P35.2 Врожденная инфекция, вызванная вирусом

простого герпеса [herpes simplex], P35.3 Врожденный вирусный гепатит, P35.8 Другие врожденные вирусные инфекции.

Методы экономического анализа. Для расчета величины возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b обоснования экономической целесообразности внедрения данного подхода в рамках оптимизации эпидемиологического надзора за ВУИ, ToRCH-инфекциями использовались основные положения методики определения экономических потерь на один случай заболевания [235]. Учитывался эффект только в разрезе перинатального периода. Непрямые затраты не учитывались. Оценку прямых медицинских затрат на одного пациента проводили в зависимости от степени тяжести заболевания, региональных расходов на медицинское обслуживание всех зарегистрированных пациентов с ВУИ в 2020 г. в городе Москве. Стоимость лекарственного обеспечения при стационарном лечении одного новорожденного с ВУИ рассчитывалась, как произведение средней арифметической цены (руб.) лекарственных препаратов определенного класса в среднесуточной дозировке, используемых для лечения, на длительность курса лечения (дни). Затраты на лабораторные и инструментальные исследования И другие медицинские мероприятия рассчитывались, как произведение стоимости (руб.) и кратности проведения. Расчет стоимости выявления и лабораторного подтверждения наличия наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациента с использованием инновационного способа, основанного на определении концентрации ДНК ВГЧ-6а/в в образцах цельной крови, ногтевых пластин или волосяных фолликулов с помощью метода ПЦР-РВ, проведен по формуле:

Затраты на выявление и лабораторное подтверждение = наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса

Затраты на определение ДНК

R.humanbeta6a/b в образце х 2 (руб.)

биологического материала

методом ПЦР-РВ

При определении величины возможного предотвращенного экономического ущерба учтено количество зарегистрированных случаев ВУИ у новорожденных (абс.) и расчетное количество новорожденных с хиВГЧ-6а/b-статусом (абс.). Расчет проведен по формуле:

Предотвращенный Прямые Затраты на выявление

экономический ущерб = медицинские и лабораторное (руб.)

затраты — подтверждение

наследуемого хиВГЧ
ба/b-статуса

(2.7)

Методы статистического анализа. Данные, полученные ходе исследования, подвергнуты статистическому анализу c использованием стандартных методов вариационной статистики. Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ Microsoft Excel (Windows 10), SPSS16. Достоверность различий для независимых выборок оценивалась с помощью Uкритерия Манна-Уитни. Статистическая значимость различий качественных признаков в сравниваемых группах оценивалась при помощи точного критерия Фишера и критерия χ^2 Пирсона. Для количественных данных предварительно выполнялась оценка характера распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При сравнении количественных признаков, имеющих распределение, близкое к нормальному, использовался t-критерий Стьюдента. Уровень значимости статистических показателей считался достоверным при p < 0.05, недостоверным – при $p \ge 0.05$.

Программное обеспечение. Накопление, корректировка, систематизация исходных и полученных данных в ходе проведения исследования, визуализация анализируемой информации осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Excel (Windows 10). Программное обеспечение для построения ER-диаграммы реализовано на языке программирования PHP 7.2 с использованием модулей,

выполненных на языке JavaScript (ECMAScript 5.1) [236] базы данных MySQL 5.6 [237]. Верстка осуществлена на языке каскадных стилей CSS (Level 4) и языке гипертекстовой разметки HTML5. Программное обеспечение онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b» реализовано на языке программирования PHP 7.2 с использованием модулей, выполненных на языке JavaScript (ECMAScript 5.1) [238,239] базы данных MySQL 5.6 [240].

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ДИНАМИКИ УРОВНЯ И СТРУКТУРЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ИНФЕКЦИЯМИ Т₀RCH-ГРУППЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

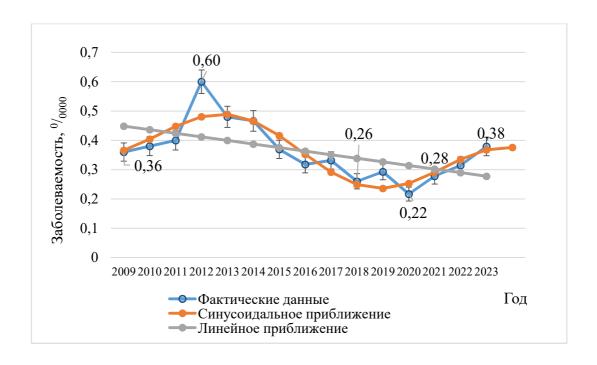
В Российской Федерации обязательному учету и регистрации среди инфекций, входящих в ToRCH-группу, подлежат такие нозологии, токсоплазмоз, краснуха (нозологические формы: краснуха, CBK) цитомегаловирусная инфекция (нозологические формы: ЦМВБ, врожденная ЦМВИ). В связи с тем, что на текущий момент времени среди основных инфекций, входящих в ToRCH-группу, только краснуха относится к заболеваниям, управляемым средствами специфической профилактики, представляло интерес изучение современной эпидемиологической ситуации по указанным инфекциям в стране.

3.1 Особенности современной эпидемиологической ситуации по токсоплазмозу в Российской Федерации

Для оценки эпидемиологической ситуации по токсоплазмозу на территории Российской Федерации за период с 2009 по 2023 гг. в целом, по федеральным округам, отдельным субъектам проведен ретроспективный анализ динамики уровня, структуры и территориального распределения заболеваемости на основе официальных статистических данных.

По данным формы №2 Федерального государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за изучаемый временной период в стране ежегодно регистрировали от 318 до 858 случаев токсоплазмоза, включая как врожденные, так и приобретенные формы. Показатели заболеваемости токсоплазмозом за анализируемый временной промежуток не имели существенных отличий и находились в пределах $0.36^{\circ}/_{0000}$ (2009 г.) и $0.38^{\circ}/_{0000}$ (2023 г.) (рисунок 3.1).

При анализе многолетней динамики заболеваемости токсоплазмозом среди населения Российской Федерации выявлено наличие прямолинейной тенденции к снижению уровня заболеваемости на 3,36% (p=0,029). Согласно расчетным данным, длина цикла многолетних колебаний составила 11 лет (таблица 3.1).



 Π р и м е ч а н и е — Для линейного приближения R^2 =0,315, для приближения суммы линейной и синусоидальной компоненты R^2 =0,791. Полосы погрешности здесь и далее показывают 95% доверительные границы

Рисунок 3.1 – Динамика заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Как следует из рисунка 3.1, с 2009 до 2012 гг. отмечался рост заболеваемости в 1,67 раза с 0,36 до $0,60^{\circ}/_{0000}$ (p<0,0001). В дальнейшем с 2012 г. заболеваемость носила волнообразный характер с выраженной тенденцией к снижению. Показатель заболеваемости токсоплазмозом к 2020 г. ($0,22^{\circ}/_{0000}$) снизился в 2,73 раза по сравнению с 2012 г. ($0,60^{\circ}/_{0000}$) (p<0,0001).

Таблица 3.1 Основные характеристики динамики заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Регион	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	p	Темп	Длина
наблюдения	многолет-	0/0000	величина	тичес-		прирос-	цикла
	ний		изменения	кая		та/	многолет-
	показатель		за год,	погреш-		убыли,	них коле-
	заболевае-		0/0000	ность		%	баний,
	мости, ⁰ / ₀₀₀₀						лет
Российская	0,36	0,3630	-0,0122	0,0050	0,029	-3,36	11
Федерация							

Самый низкий показатель заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009—2023 гг. установлен в 2020 г. $(0,22^0/_{0000})$ что по-видимому, обусловлено снижением выявляемости в период пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19). В дальнейшем, с 2021 г. выявлен рост заболеваемости в 1,36 раза с $0,28^0/_{0000}$ (2021 г.) до $0,38^0/_{0000}$ (2023 г.) (p<0,0001) (таблица 3.2). Абсолютный прирост заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2021 г. составил $0,10^0/_{0000}$, темп прироста 35,71%. Среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009—2023 гг. составил $0,36^0/_{0000}$.

Таблица 3.2 – Заболеваемость токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	токсоплазмозом,	прирост/убыль,	роста/	прироста/
	0/0000	0/0000	снижения, %	убыли, %
2009	0,36	_	_	_
2010	0,38	0,02	105,6	5,6
2011	0,40	0,02	105,3	5,3
2012	0,60	0,20	150,0	50,0

Продолжение таблицы 3.2

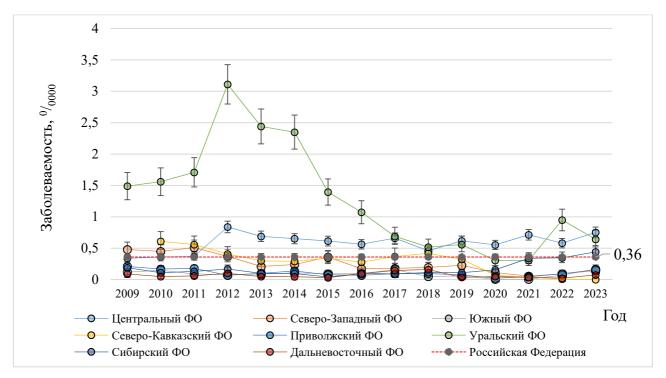
Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	токсоплазмозом,	прирост/убыль,	роста/	прироста/
	0/0000	0/0000	снижения, %	убыли, %
2013	0,48	-0,12	80,0	-20,0
2014	0,47	-0,01	97,9	-2,1
2015	0,37	-0,10	78,7	-21,3
2016	0,32	-0,05	86,5	-13,5
2017	0,33	0,01	103,1	3,1
2018	0,26	-0,07	78,8	-21,2
2019	0,29	0,03	111,5	11,5
2020	0,22	-0,07	75,9	-24,1
2021	0,28	0,06	127,3	27,3
2022	0,31	0,03	110,7	10,7
2023	0,38	0,07	122,6	22,6

В разрезе субъектов Российской Федерации в 2009–2023 гг. выявлена неравномерность территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом при проведении ретроспективного эпидемиологического анализа (рисунок 3.2).



Рисунок 3.2 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости токсоплазмозом в 2009—2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)

Лидирующие позиции по уровню заболеваемости токсоплазмозом за анализируемый временной промежуток занимали Уральский $(1,27^{0}/_{0000})$ и Центральный $(0,59^{0}/_{0000})$ федеральные округа с превышением среднероссийского показателя $(0,36^{0}/_{0000})$ в 3,53 и 1,64 раза соответственно (p<0,0001) (рисунок 3.3).



Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.3 – Динамика заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг. в целом и по федеральным округам

Основные характеристики динамики заболеваемости токсоплазмозом в отдельных федеральных округах и субъектах Российской Федерации представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 Основные характеристики динамики заболеваемости токсоплазмозом в федеральных округах и отдельных субъектах Российской Федерации в 2009–2023 гг.

	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	р	Гемп	Длина	Достоверность	рность
	многолет-	0000/0	величина	тическая		прироста/	цикла	аппроксимации, R ²	тации, R ²
	ний		изменения	погреш-		убыли, %	многолет-	линейная	линейная
	показатель		за год	ность			них коле-		и синусои-
	заболевае-						баний, лет		дальная
<u> </u>	мости, $^0/_{0000}$								
Центральный	0,59	0,5849	0,0151	0,0082	0,087	2,59	6	0,209	0,503
федеральный округ									
Северо-Западный	0,25	0,2538	-0,0285	0,0043	<0,001	-11,25	4	0,775	0,907
федеральный округ									
Южный федеральный	60,0	0,0900	-0,0035	0,0028	0,237	-3,90	9	0,106	0,400
Северо-Кавказский	0,28	0,2877	-0,0405	0,0065	<0,001	-14,08	8	0,763	0,956
федеральный округ									
Приволжский	0,11	0,1072	-0,0064	0,0028	0,037	-5,98	13	0,294	0,471
федеральный округ									
Уральский	1,27	1,2736	-0,1351	0,0369	0,003	-10,60	10	0,508	0,863
федеральный округ									

Продолжение таблицы 3.3

Регион наблюдения	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	d	Темп	Длина	Достоверность	эрность
	многолет-	0000/0	величина	тическая		прироста/	цикла	аппроксимации, R ²	мации, R ²
	ний		изменения	погреш-		убыли, %	многолет-	линейная	линейная
	показатель		за год	ность			них коле-		и синусои-
	заболевае-						баний, лет		дальная
	мости, $^{0}/_{0000}$								
Сибирский	1,27	0,1696	0,0154	0,0057	0,018	80,6	2	0,359	0,371
федеральный округ									
Дальневосточный	0,16	0,0705	-0,0010	0,0025	0,708	-1,38	9	0,011	0,365
федеральный округ									
Нижегородская	0,07	0,1525	0,0085	0,0040	0,054	5,55	13	0,256	0,702
область									
Красноярский край	0,15	0,0517	-0,0001	0,0046	0,986	-0,16%	12	0,000	0,405
Пензенская область	0,05	0,4016	-0,0684	0,0196	0,004	-17,04%	12	0,485	0,706
Ямало-Ненецкий	0,41	0,3720	-0,0159	0,0212	0,466	-4,28%	12	0,042	0,235
автономный округ									
Республика Ингушетия	0,37	3,2683	-0,7005	0,1823	0,002	-21,43%	11	0,532	0,695
Республика Северная	3,03	1,3943	0,0858	0,1077	0,440	6,15	11	0,047	0,229
Осетия – Алания									
Алтайский край	1,40	0,1360	-0,0225	0,0074	0,010	-16,56	11	0,413	0,551
Ленинградская область	0,14	0,0858	-0,0172	0,0046	0,002	-20,04	11	0,518	0,663

Продолжение таблицы 3.3

Регион наблюдения	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	d	Темп	Длина	Достов	Достоверность
	многолет-	0000/0	величина	тическая		прироста/	цикла	аппроксимации, R ²	мации, R ²
	ний		изменения	погреш-		убыли, %	многолет-	линейная	линейная
	показатель		за год	HOCTB			них коле-		и синусои-
	заболевае-						баний, лет		дальная
	MOCTM, 0/0000								
Республика Карелия	0,08	0,7614	-0,1028	0,0269	0,002	-13,50	10	0,530	0,636
Республика Татарстан	0,79	0,0571	0,0028	0,0028	0,333	4,93	10	0,072	0,561
Краснодарский край	90,0	0,1377	0,0028	0,0062	0,664	2,00	10	0,015	0,513
Тамбовская область	0,13	0,1311	-0,0153	0,0088	0,108	-11,65	10	0,187	0,571
Тульская область	0,11	0,1046	-0,0083	0,0047	0,101	-7,95	10	0,193	0,473
Тюменская область	2,09	2,1245	-0,1966	0,103	0,077	-9,26	10	0,23	0,707
Город Москва	1,54	1,5196	0,0631	0,0294	0,052	4,15	6	0,261	0,508
Волгоградская область	0,12	0,1181	-0,0020	0,0068	0,773	-1,70	6	0,007	0,253
Иркутская область	0,10	0,1021	-0,0018	0,0051	0,730	-1,78	6	0,010	0,297
Свердловская область	1,48	1,4774	-0,2441	0,0432	<0,001	-16,52	6	0,711	0,884
Челябинская область	0,25	0,2492	0,0186	0,0074	0,026	7,48	6	0,328	0,612
Город Санкт-	0,39	0,3985	-0,0329	0,0080	0,001	-8,25	8	0,565	0,634
Петербург									
Белгородская область	0,08	0,0788	-0,0103	0,0040	0,024	-13,13	8	0,334	0,524

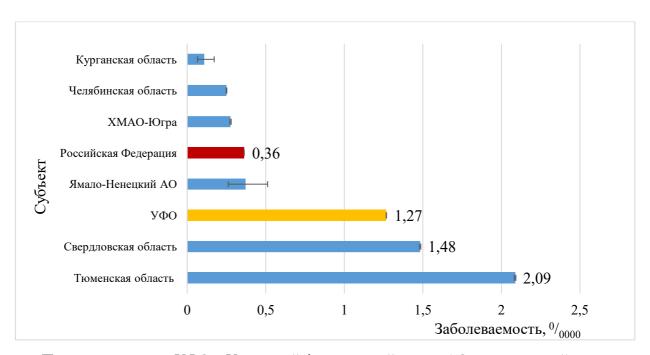
Продолжение таблицы 3.3

Регион наблюдения	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	d	Темп	Длина	Достоверность	эрность
	многолет-	0000/0	величина	тическая		прироста/	цикла	аппроксимации, R ²	мации, R ²
	ний		изменения	погреш-		убыли, %	многолет-	линейная	линейная
	показатель		за год	HOCTB			них коле-		и синусои-
	заболевае-						баний, лет		дальная
	мости, $^{0}/_{0000}$								
Республика Мари Эл	0,24	0,2451	0,0459	0,0110	0,001	18,74	L	0,574	0,592
Забайкальский край	0,46	0,4485	-0,0917	0,0249	0,003	-20,44	7	0,511	0,640
Калининградская	0,21	0,2142	-0,0161	0,0120	0,201	-7,54	L	0,122	0,361
область									
Московская область	0,07	90/0,0	-0,0018	0,0030	0,555	-2,55	6	0,028	0,297
Смоленская область	0,17	0,1680	0,0038	0,0116	0,750	2,26	7	0,008	090,0
Хабаровский край	0,13	0,1294	-0,0001	0,0083	686'0	60,0-	9	0,000	0,359
Липецкая область	0,93	0,9267	-0,0880	0,0202	0,001	-9,50	9	0,593	0,667
Ханты-Мансийский	0,28	0,2746	0,0100	0,0290	0,734	3,66	9	0,009	0,278
автономный округ –									
Югра									
Курская область	0,25	0,2539	0,0389	0,0142	0,017	15,32	S	0,365	0,670
Орловская область	0,18	0,1755	0,0023	0,0097	0,818	1,30	5	0,004	0,219
Пермский край	0,39	0,3836	-0,0823	0,0128	0,000	-21,45	4	0,762	0,845

Продолжение таблицы 3.3

Регион наблюдения	Средне-	Среднее,	Средняя	Статис-	d	Темп	Длина	Достоверность	рность
	многолет-	0000/0	величина	тическая		прироста/	цикла	аппроксимации, R ²	ıации, R ²
	ний		изменения	погреш-		убыли, %	многолет-	линейная	линейная
	показатель		за год	ность			них коле-		и синусои-
	заболевае-						баний, лет		дальная
	мости,								
	0000/0								
Ивановская область	0,10	0,1011	-0,0131	0,0070	0,083	-12,92	9	0,213	0,337
Воронежская область	0,39	0,3911	-0,0763	0,0216	0,004	-19,51	4	0,490	0,618
Томская область	1,33	1,3219	0,3703	0,0737	<0,001	28,01	2	099,0	0,663
Примечание – Из анализа исключены субъекты Российской Федерации, в которых за большую часть изучаемого временного	е – Из анализ	за исключень	л субъекты Ро	эссийской Ф	здерации, в 1	которых за бо	льшую часть	, изучаемого	временного
HOWING HOLD CHEMICAL COLORD CONTROL MONDOWN TO MODIFICATION THAT HOLD COLOR CONTROL CO	COCCUMITATION OF COC	OH A COCO COST CONT.	doction of the	Doorse Doorse	Size citization	" Describ	Your Acres	CIM CHI IG IIIII	- CIIIII OH OH

периода случаи заболеваемости токсоплазмозом не регистрировались. Распределение субъектов Российской Федерации выполнено по длине цикла многолетних колебаний Следует отметить, что территориальное распределение заболеваемости токсоплазмозом по субъектам Уральского и Центрального федеральных округов за анализируемый временной промежуток было крайне неравномерным. В Уральском федеральном округе ведущие позиции по уровню заболеваемости данной паразитарной протозойной инвазией занимали Тюменская и Свердловская области. В данных субъектах Российской Федерации установлен среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом равный 2,09 и $1,48^{0}/_{0000}$, что выше среднероссийского уровня $(0,36^{0}/_{0000})$ в 5,81 и 4,11 раз соответственно (p<0,0001) (рисунок 3.4).

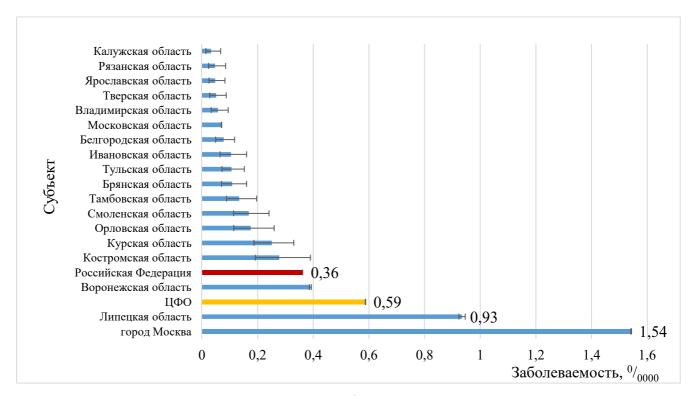


Примечание – УФО – Уральский федеральный округ, АО – автономный округ

Рисунок 3.4 — Распределение заболеваемости токсоплазмозом в субъектах Уральского федерального округа в 2009—2023 гг.

В Центральном федеральном округе за 15-летний период наблюдения максимальный уровень заболеваемости токсоплазмозом зарегистрирован в городе Москве $(1,54^{0}/_{0000})$, что выше среднероссийского показателя в 4,28 раза (p<0,0001) (рисунок 3.5). В тот же временной период среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом в Московской, Владимирской, Рязанской,

Тульской, Калужской, Смоленской, Тверской, Ярославской областях не превышал среднероссийский, составляя 0,07; 0,06; 0,05; 0,11; 0,03; 0,17; 0,05; 0,05 $^{\circ}$ / $_{0000}$ соответственно. На втором месте находилась Липецкая область, где установлен среднемноголетний уровень равный 0,93 $^{\circ}$ / $_{0000}$, превышавший среднероссийский показатель в 2,58 раза (p<0,0001).



Примечание – ЦФО – Центральный федеральный округ

Рисунок 3.5 — Распределение заболеваемости токсоплазмозом в субъектах Центрального федерального округа в 2009—2023 гг.

В исследуемый временной период в Российской Федерации при анализе возрастной структуры заболеваемости токсоплазмозом среди детского (0–17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения выявлено преобладание взрослого (87,82%) по сравнению с детским (12,18%) (рисунок 3.6).

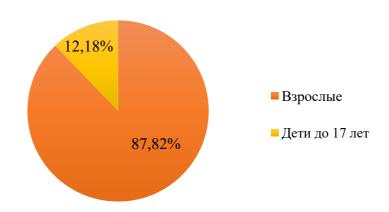


Рисунок 3.6 – Удельный вес детского и взрослого населения в возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Доля взрослого населения варьировала от 80,94% (2009 г.) до 89,39% (2023 г.) (таблица 3.4). Установлена достоверная тенденция к увеличению удельного веса взрослого населения в возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг. (p<0,05).

Таблица 3.4 — Динамика долевого распределения детского и взрослого населения в возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Период	Доля заре	егистрирован	ных случаев	заболеваемос	сти токсоплаз	вмозом, %
наблюдения,	до года	1–2 года	3-6 лет	7–14 лет	15–17 лет	взрослые
год						
2009	5,50	1,18	3,73	5,70	2,95	80,94
2010	8,40	2,43	5,04	5,41	1,87	76,87
2011	8,44	0,88	4,57	7,38	1,76	76,98
2012	5,24	1,05	2,68	4,90	0,70	85,43
2013	4,07	1,31	1,89	5,52	1,02	86,19
2014	2,21	0,88	1,91	3,68	0,74	90,59
2015	4,82	0,56	2,23	2,60	1,86	87,94

Продолжение таблицы 3.4

Период	Доля заре	егистрирован	ных случаев	заболеваемос	сти токсоплаз	вмозом, %
наблюдения,	до года	1–2 года	3-6 лет	7–14 лет	15-17 лет	взрослые
год						
2016	0,43	1,51	1,51	4,30	2,15	90,11
2017	0,21	0	1,23	3,50	1,03	94,03
2018	2,09	0,79	0,52	2,62	1,05	92,93
2019	0	0,23	0,70	4,88	1,63	92,56
2020	0	0,31	1,89	2,20	0,31	95,28
2021	0	0,49	1,23	2,21	2,21	93,86
2022	0,44	0,22	1,53	2,40	1,09	94,34
2023	0	0,36	1,98	6,47	1,80	89,39
Среднее	3,15	0,86	2,28	4,44	1,45	87,82

заболеваемости токсоплазмозом Многолетняя тенденция населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг. характеризовалась периодами подъемов и спадов с пиковым значением $0.63^{0}/_{0000}$ в 2012 г. (рисунок 3.7). Показатели заболеваемости токсоплазмозом среди взрослых за изучаемый временной период варьировали от $0.36^{\circ}/_{0000}$ (2009 г.) до $0.43^{\circ}/_{0000}$ (2023 г.). Самый низкий уровень заболеваемости данной паразитарной протозойной инвазией зарегистрирован в 2020 г. $(0.26^{\circ}/_{0000})$. За последние три года (2021–2023 гг.) в Российской Федерации отмечался незначительный заболеваемости рост токсоплазмозом среди взрослого населения в 1,65 раза с $0.26^{0}/_{0000}$ (2020 г.) до $0,43^{0}/_{0000}$ (2023 г.) (p<0,0001) с абсолютным приростом $0,17^{0}/_{0000}$ и темпом прироста 65,38%. Среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом взрослого населения в Российской Федерации в 2009-2023 гг. составил $0,40^{0}/_{0000}$.

Тенденция заболеваемости токсоплазмозом детского населения в Российской Федерации за изучаемый временной промежуток носила сглаженный характер. Показатели заболеваемости токсоплазмозом среди детей в возрасте 0–17 лет включительно в Российской Федерации в 2009–2023 гг. варьировали от $0.37^{0}/_{0000}$ (2009 г.) до $0.20^{0}/_{0000}$ (2023 г.) (рисунок 3.7) с разнонаправленными тенденциями

инцидентности в разные временные периоды (таблица 3.5). Минимальный уровень заболеваемости среди детей данной возрастной группы отмечался в 2020 г. $(0.05^{0}/_{0000})$, максимальный – в 2011 г. $(0.50^{0}/_{0000})$.

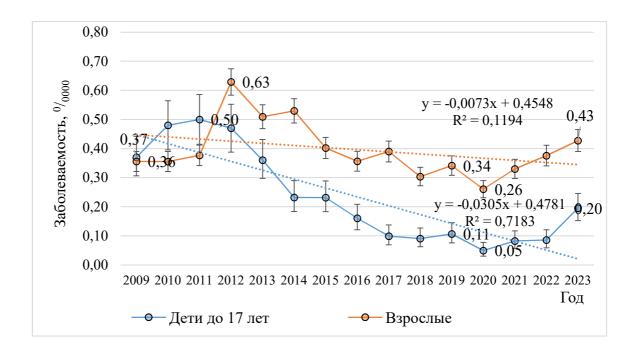


Рисунок 3.7 – Динамика заболеваемости токсоплазмозом взрослого и детского населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом детей в возрасте 0–17 лет включительно за анализируемый временной промежуток составил $0.23^{0}/_{0000}$.

В условиях пандемического распространения COVID-19, введения массовых ограничительных мероприятий среднероссийские показатели заболеваемости токсоплазмозом в 2020 г. как среди детского, так и взрослого населения находились на низком уровне по сравнению с 2019 г.: 0.05 и $0.26^{0}/_{0000}$ против 0.11 и $0.34^{0}/_{0000}$ соответственно (рисунок 3.7). За последние три года (2021-2023 гг.) в Российской Федерации отмечался рост заболеваемости токсоплазмозом среди детей в возрасте 0-17 лет в 4 раза (с $0.05^{0}/_{0000}$ (2020 г.) до $0.20^{0}/_{0000}$ (2023 г.)) (p<0,0001) с абсолютным приростом $0.15^{0}/_{0000}$, темп прироста 300%.

Таблица 3.5 — Заболеваемость токсоплазмозом детей в возрасте 0—17 лет в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	токсоплазмо-	прирост/убыль,	роста/	прироста/
	зом детского	0/0000	снижения, %	убыли, %
	населения,			
	0/0000			
2009	0,37	-	_	_
2010	0,48	0,11	129,7	29,7
2011	0,50	0,02	104,2	4,2
2012	0,47	-0,03	94,0	-6,0
2013	0,36	-0,11	76,6	-23,4
2014	0,23	-0,13	63,9	-36,1
2015	0,23	0	100,0	0
2016	0,16	-0,07	69,6	-30,4
2017	0,10	-0,06	62,5	-37,5
2018	0,09	-0,01	90,0	-10,0
2019	0,11	0,02	122,2	22,2
2020	0,05	-0,06	45,5	-54,5
2021	0,08	0,03	160,0	60,0
2022	0,08	0	100,0	0
2023	0,20	0,12	250,0	150,0

Многолетняя динамика заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации у детей разных возрастных групп имела существенные различия (рисунок 3.8).

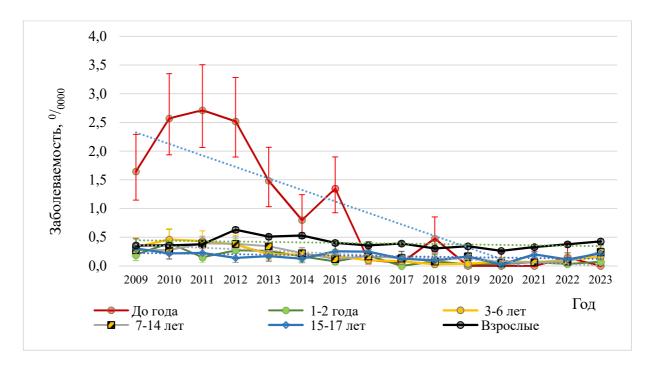


Рисунок 3.8 — Динамика заболеваемости токсоплазмозом детского населения различных возрастных групп и взрослых в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Динамика заболеваемости детей первого года жизни (грудного возраста) характеризовалась периодами подъемов и спадов. Максимальный уровень заболеваемости токсоплазмозом в данной возрастной группе за анализируемый временной период отмечался в 2011 г. $(2,71^{0}/_{0000})$, а в 2019—2021 гг. и 2023 г. не зарегистрировано ни одного случая (рисунок 3.9).

Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом детей до года в Российской Федерации в 2009–2023 гг. составил $0.86^{0}/_{0000}$. Данный показатель превышал среднемноголетние уровни заболеваемости данной паразитарной протозойной инвазией среди детского населения других возрастных групп и взрослых в 4.53–7.17 и 2.15 раз (p<0.0001), соответственно (рисунок 3.10).

Динамика заболеваемости детского населения в остальных возрастных группах носила более сглаженный характер (рисунок 3.8).

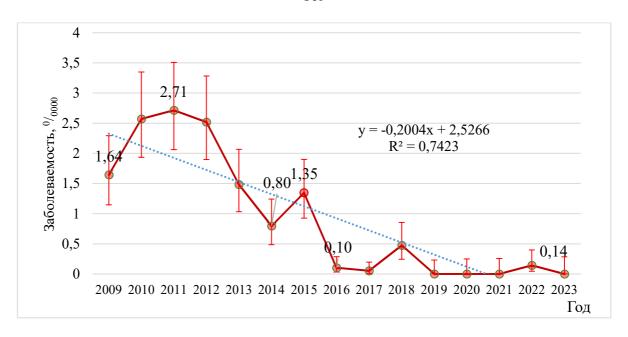


Рисунок 3.9 — Динамика заболеваемости токсоплазмозом в возрастной группе детей до года в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

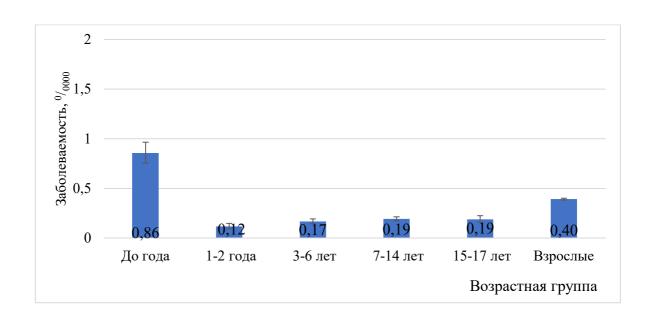


Рисунок 3.10 — Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом детского населения различных возрастных групп и взрослых в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

В возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом детского населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг. преобладали дети в возрасте 7–14 лет

(36,46%). Доля заболевших токсоплазмозом детей в возрасте до года составила 25,83%, детей в возрасте до 6 лет -51,66% (рисунок 3.11).

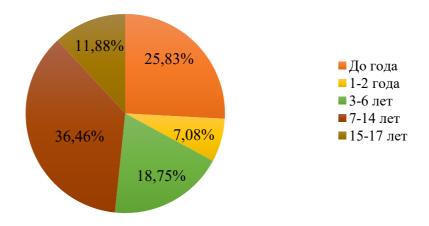


Рисунок 3.11 — Возрастная структура заболеваемости токсоплазмозом детского населения в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Анализ территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом детей первого года жизни по субъектам Российской Федерации в период с 2009 по 2023 гг. свидетельствовал о высокой неравномерности учета и регистрации случаев заболевания данной паразитарной протозойной инвазией (рисунок 3.12).

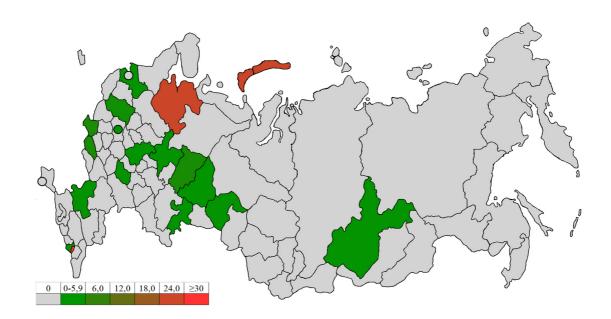


Рисунок 3.12 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости токсоплазмозом детей в возрасте до года в 2009–2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)

Всего за 15-летний (2009—2023 гг.) период наблюдения выявлено 248 случаев токсоплазмоза у детей первого года жизни в 17 из 85 субъектов Российской Федерации. При этом в Архангельской области и Республике Ингушетии 67,53% и 65,17% выявленных случаев, соответственно, приходились на детей данной возрастной группы (таблица 3.6).

Как следует из таблицы 3.6, максимальные показатели заболеваемости токсоплазмозом детей первого года жизни выявлены в субъектах, относящихся к различным федеральным округам.

Таблица 3.6 — Сравнительный анализ заболеваемости токсоплазмозом детей первого года жизни и совокупного населения в субъектах Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Субъект	Забол	еваемость	Заболе	еваемость	Отно-	Доля
	токсоплазмозом		токсог	токсоплазмозом		детей до
	дете	й до года	нас	еления		года, %
	абс.	0/0000	абс.	0/0000		
Архангельская область	52	362,06	77	6,42	56,36	67,53
Республика Ингушетия	144	1509,95	221	49,02	30,80	65,16
Тверская область	4	27,88	10	0,72	38,72	40,0
Брянская область	6	44,14	20	1,61	27,40	30,0
Курская область	6	45,63	42	3,81	11,98	14,29
Пермский край	15	42,74	153	5,75	7,43	9,80
Ростовская область	3	6,65	36	0,85	7,84	8,33
Иркутская область	2	5,39	37	1,53	3,52	5,41
Кировская область	1	5,92	21	1,78	3,33	4,76
Ленинградская область	1	6,47	22	1,29	5,03	4,55
Нижегородская область	1	3,73	74	2,29	1,63	1,35
Пензенская область	1	6,81	82	6,02	1,13	1,22
Челябинская область	1	2,03	130	3,74	0,54	0,77
Республика Северная	1	12,41	147	20,91	0,59	0,68
Осетия – Алания						

Продолжение таблицы 3.6

Субъект	Заболеваемость		Заболеваемость		Отно-	Доля
	токсоплазмозом		токсоплазмозом		шение	детей до
	детей до года		населения			года, %
	абс.	0/0000	абс.	0/0000		
Город Москва	8	6,59	2787	22,79	0,29	0,29
Свердловская область	1	1,68	960	22,16	0,08	0,10
Тюменская область	1	5,24	1132	80,58	0,07	0,09

В 2009 г. случаи заболеваемости токсоплазмозом среди детей первого года жизни зарегистрированы в 8 из 80 субъектов Российской Федерации, что составило 10%. При этом 60,71% (17 из 28) случаев отмечены в Архангельской области, по 4 случая – Пермском крае и Тверской области, по одному случаю – Брянской, Тюменской областях и городе Москве. В 2010 г. зарегистрированы 45 случаев в 5 субъектах. Среди которых: 23 – в Республике Ингушетии, 17 – в Архангельской области, 3 – в Пермском крае, еще по одному случаю – в Иркутской и Ростовской областях. В 2011 г. случаи заболеваемости токсоплазмозом среди детей первого года жизни зарегистрированы в 5 субъектах Российской Федерации с общим числом случаев 48. В Республике Ингушетия – 31 случай, Архангельской области -9, Пермском крае -5, Брянской области -2, городе Москве -1. В 2012 г. -45случаев в 5 субъектах. В Республике Ингушетия – 30, Архангельской области – 9, Брянской области – 3, Ростовской области – 2, Ленинградской области – 1 случай. Дискретность регистрации случаев заболеваемости токсоплазмозом среди детей грудного возраста, по-видимому, связана с существующими проблемами в диагностике.

Из 7882 случаев заболеваемости токсоплазмозом, зарегистрированных в Российской Федерации в 2009—2023 гг., 1162 случая приходилось на жителей сельских поселений. При анализе удельного веса сельского и городского населения среди заболевших токсоплазмозом за 15-летний период наблюдения установлено преобладание городских жителей (85,26%), доля жителей сельских поселений составила 14,74% (рисунок 3.13).

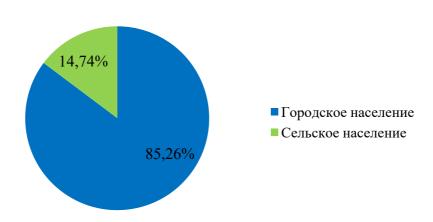


Рисунок 3.13 – Удельный вес городского и сельского населения среди заболевших токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Уровень заболеваемости токсоплазмозом жителей сельских поселений ниже, чем городского населения (рисунок 3.14).

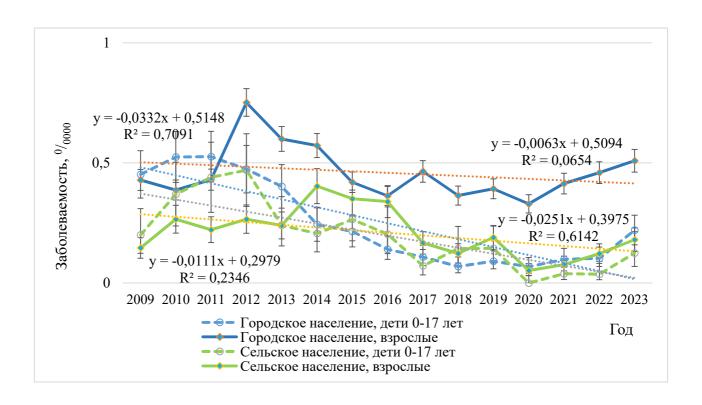


Рисунок 3.14 — Динамика заболеваемости токсоплазмозом детского и взрослого городского и сельского населения в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом среди взрослых, проживающих в городе, был выше в 1,84 раза, чем среди детей в возрасте

0—17 лет (0,46 против $0,25^{0}/_{0000}$); у жителей сельских поселений данные показатели достоверно не отличались (0,21 и $0,20^{0}/_{0000}$ соответственно).

За 15-летний (2009–2023 гг.) период в Российской Федерации зарегистрировано 27 случаев смерти от токсоплазмоза, в том числе 4 случая среди детей в возрасте до 17 лет включительно (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Смертность при токсоплазмозе в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Период наблюдения,	Зарегистрировано случаев смерти				
год	всего		из них детей в возрасте 0–17 лет		
			вклн	очительно	
	абс.	0/0000	абс.	0/0000	
2009	1	0	1	0	
2010	0	0	0	0	
2011	1	0	1	0	
2012	2	0	0	0	
2013	1	0	0	0	
2014	3	0,002057	1	0,003629	
2015	1	0,000685	0	0	
2016	0	0	0	0	
2017	0	0	0	0	
2018	3	0,002043	1	0,003358	
2019	1	0,000681	0	0	
2020	1	0,000681	0	0	
2021	6	0,004097	0	0	
2022	1	0,000686	0	0	
2023	6	0,00409	0	0	

Смертность при токсоплазмозе населения за изучаемый период составляла $0.00124^{0}/_{0000}$, 95% ДИ $[0.00086-0.00174^{0}/_{0000}]$, детей в возрасте от 0 до 17 лет

включительно — $0,0094^{0}/_{0000}$, 95% ДИ [0,00056— $0,00111^{0}/_{0000}$]. Различие показателей смертности взрослого и детского населения недостоверно (p=0,364).

Несмотря на снижение заболеваемости, смертность при токсоплазмозе имела тенденцию к росту (рисунок 3.15).

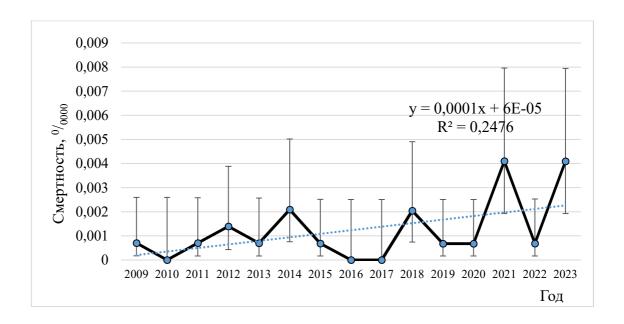


Рисунок 3.15 — Динамика смертности при токсоплазмозе населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Ретроспективный эпидемиологический анализ показал неравномерность территориального распределения смертности при токсоплазмозе населения Российской Федерации в разрезе ее субъектов в 2009–2023 гг. (таблица 3.8). Самые высокие показатели смертности были зарегистрированы в Томской области $(0.56^{0}/_{0000})$ Сибирского федерального округа, а среди детского населения – в Брянской области $(0.06^{0}/_{0000})$ Центрального федерального округа. Статистически значимая корреляционная связь между заболеваемостью токсоплазмозом и смертностью при данном заболевании по субъектам Российской Федерации отсутствовала.

Таблица 3.8 Территориальное распределение регистрации случаев смерти от токсоплазмоза населения в разрезе субъектов Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Субъект	Зарегистрировано случаев смерти				
	всего		из них детей в возрасте		
			Д	о 17 лет	
			ВКЛИ	очительно	
	абс.	0/0000	абс.	0/000	
Томская область	9	0,05636	0	0	
Иркутская область	3	0,00890	0	0	
Орловская область	3	0,02636	1	0,04972	
Брянская область	2	0,01087	2	0,05911	
Курская область	2	0,01196	1	0,03314	
Республика Бурятия	2	0,01366	0	0	
Пензенская область	1	0,00499	0	0	
Свердловская область	1	0,00154	0	0	
Смоленская область	1	0,00703	0	0	
Тюменская область	1	0,00184	0	0	
Чувашская Республика	1	0,01585	0	0	
Ямало-Ненецкий автономный округ	1	0,01235	0	0	

В 2023 г. показатель заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации вырос в 1,23 раза по сравнению с 2022 г.: $0.38^{0}/_{0000}$ и $0.31^{0}/_{0000}$ соответственно (p<0,001). Абсолютный прирост составил $0.07^{0}/_{0000}$, темп прироста 22,58% (таблица 3.2). В 2023 г. было зарегистрировано 556 случаев заболеваний данной паразитарной протозойной инвазией ($0.38^{0}/_{0000}$) в 48 (56.47%) из 85 регионов Российской Федерации (рисунок 3.16), случаев смерти – 6.

Максимальный уровень заболеваемости токсоплазмозом установлен в Центральном $(0,75^{0}/_{0000})$ и Уральском $(0,64^{0}/_{0000})$ федеральных округах. В Северо-Кавказском федеральном округе за тот же временной период не зарегистрировано ни одного случая.



Рисунок 3.16 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости токсоплазмозом в 2023 гг. (⁰/₀₀₀₀)

В 14 субъектах Российской Федерации показатели заболеваемости токсоплазмозом превышали средний по стране уровень заболеваемости данной паразитарной протозойной инвазией $(0,38^0/_{0000})$ в 1,13-13,95 раз (рисунок 3.17). Среди которых: Чукотский (4,18), Ямало-Ненецкий (0,59) автономные округа, Кировская (1,31), Костромская (1,04), Курская (0,93), Липецкая (0,53), Орловская (0,43), Пензенская (0,49), Свердловская (0,47), Смоленская (0,45), Томская (5,3), Тюменская (2,99), Ульяновская области (0,51), город Москва (1,97).

В 2023 г. случаи заболевания токсоплазмозом не выявлены в 37 (43,53%) субъектах Российской Федерации: Камчатском, Пермском, Ставропольском краях, Еврейской Ямало-Ненецком автономном округе, автономной области, Республиках Адыгея, Алтай, Дагестан, Ингушетия, Калмыкия, Карелия, Коми, Крым, Мордовия, Саха (Якутия), Северная Осетия-Алания, Тыва, Хакасия и Кабардино-Балкарской, Карачаево-Черкесской, Чеченской, Чувашской (Чувашии) Республиках, Амурской, Архангельской, Астраханской, Белгородской, Ивановской, Калининградской, Ленинградской, Магаданской, Вологодской,

Мурманской, Самарской, Сахалинской, Тамбовской, Тверской областях, городе Севастополе.

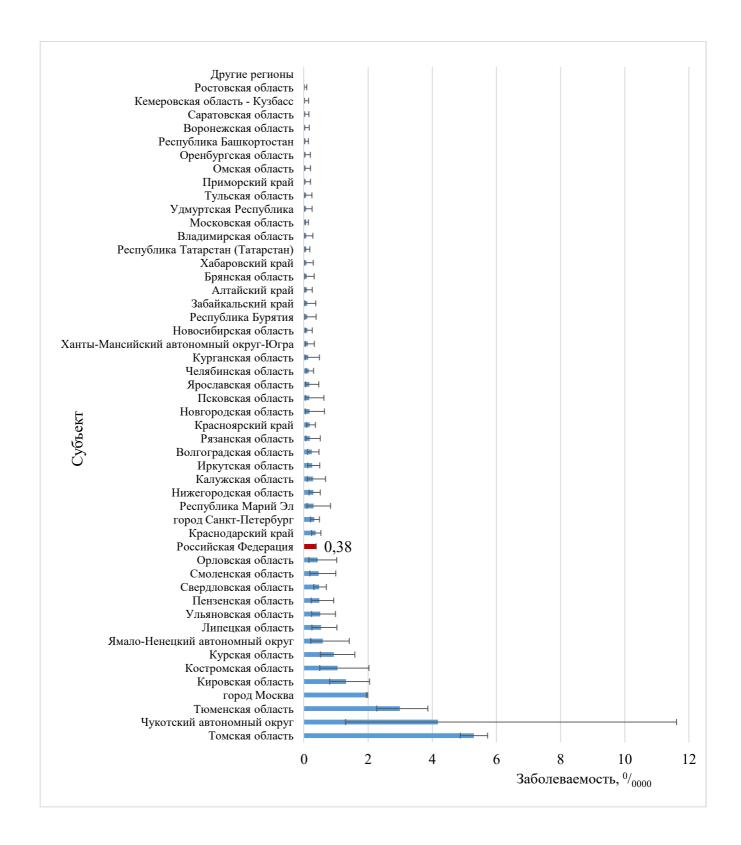


Рисунок 3.17 — Заболеваемость токсоплазмозом в субъектах Российской Федерации в 2023 г.

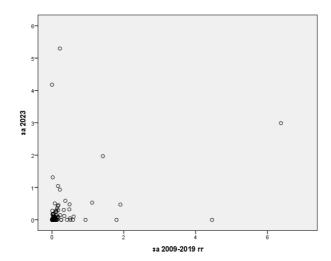
При сравнении показателей заболеваемости токсоплазмозом населения в Российской Федерации в 2023 г. установлено, что различия между субъектами, относящимся к одному федеральному округу, не отличаются от различий между субъектами, относящимся к разным федеральным округам (p=0,599). И, в целом, совместное распределение средней заболеваемости токсоплазмозом в субъектах Российской Федерации в 2023 г. (период после пандемии COVID-19) и 2009–2019 гг. (период до пандемии COVID-19) не имело статистически достоверной связи (рисунок 3.18). Коэффициент корреляции заболеваемости за 2023 г. и средней за 2009–2019 гг. r=0,292 (p<0,001), коэффициент ранговой корреляции Спирмена ρ =0,317 (p<0,001) (таблица 3.9). При сравнении данных за 2023 г. и 2020–2022 гг., 2020–2022 и 2009–2019 гг. получены сходные результаты (таблица 3.9, рисунок 3.18).

Отсутствие достоверной связи между уровнем заболеваемости токсоплазмозом в регионе за текущий год и средней многолетней заболеваемости при значительном различии заболеваемости между регионами, по-видимому, может быть обусловлено существующими недостатками в выявлении данной патологии.

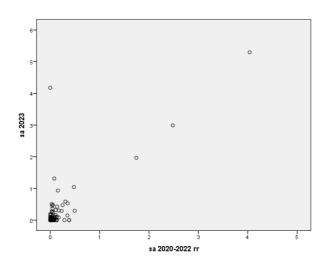
Таблица 3.9 — Совместное распределение средней заболеваемости токсоплазмозом в субъектах Российской Федерации за 2023 г. и 2009—2019 гг., 2023 г. и 2020—2022 гг., 2020—2022 и 2009—2019 гг.

Сравниваемые временные промежутки, год		Коэффициент	Коэффициент		
		корреляции	ранговой корреляции		
2023	2009–2019	0,292*	0,317*		
2023	2020–2022	0,793*	0,467*		
2020–2022	2009–2019	0,430*	0,536*		
Примечание –*p<0,001					





Б



В

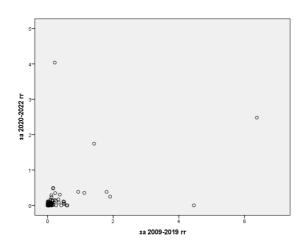


Рисунок 3.18 — Совместное распределение средней заболеваемости токсоплазмозом в субъектах Российской Федерации за 2023 г. и 2009—2019 гг. (A), 2023 г. и 2020—2022 гг. (Б), 2020—2022 и 2009—2019 гг. (В)

Среди заболевших токсоплазмозом в Российской Федерации в 2023 г. зарегистрировано 59 случаев среди детей в возрасте до 17 лет включительно $(0,20^{0}/_{0000})$, что в 2,27 раза превышает данные предыдущего года (в 2022 г. – 26 случаев): до 1 года — не зарегистрировано, 1—2 года — 2 $(0,07^{0}/_{0000})$, 3—6 лет — 11 $(0,16^{0}/_{0000})$, 7—14 лет — 36 $(0,19^{0}/_{0000})$. Среди всех зарегистрированных случаев заболеваемости токсоплазмозом на долю жителей сельских поселений пришлось 11,15%, что составило 62 $(0,17^{0}/_{0000})$ случая (2022 г. — 8,28%). Из 6 случаев смерти от токсоплазмоза, зарегистрированных в 2023 г., 3 случая — Томская область (Сибирский федеральный округ), по 1 случаю — Ямало-Ненецкий автономный округ (Уральский федеральный округ), Орловская (Центральный федеральный округ) и Свердловская области (Уральский федеральный округ).

Таким образом, многолетняя динамика заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила волнообразный характер с периодами подъемов и спадов и характеризовалась тенденцией к снижению уровня заболеваемости на 3,36% (p=0,029). Согласно расчетным данным длина цикла многолетних колебаний составила 11 лет. Среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009-2023 гг. $-0.36^{0}/_{0000}$. Отмечена существенная неравномерность территориального распределения по федеральным округам и субъектам страны. Превышение среднероссийского показателя заболеваемости токсоплазмозом в 3,53 и 1,64 раза установлено в Уральском $(1,27^{0}/_{0000})$ и Центральном $(0,59^{0}/_{0000})$ федеральных округах соответственно. Максимальный уровень заболеваемости токсоплазмозом за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения зарегистрирован в городе Москве $(1,54^{0}/_{0000})$ Центрального федерального округа. Установлено преобладание среди заболевших токсоплазмозом взрослого населения (87,82%), преимущественно городских жителей (85,26%). Среднемноголетний показатель заболеваемости взрослых $(0.40^{0}/_{0000})$ в 1,74 раза выше, чем детей до 17 лет включительно $(0.23^{0}/_{0000})$. В возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом детского населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг. преобладали дети в возрасте 7-14 лет (36,46%). Динамика заболеваемости детей первого года жизни

характеризовалась периодами подъемов и спадов с пиковым значением в 2011 г. $(2,71^{0}/_{0000})$, в 2019—2021 и 2023 гг. не зарегистрировано ни одного случая. Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом данной возрастной группы составил $0,86^{0}/_{0000}$, что превышало среднемноголетние показатели среди детского населения других возрастных групп и взрослых в 4,53-7,17 и 2,15 раз (p<0,0001), соответственно. Несмотря на снижение заболеваемости, смертность при токсоплазмозе не имела тенденцию к снижению. Различие показателей смертности взрослого и детского населения недостоверно (p=0,364).

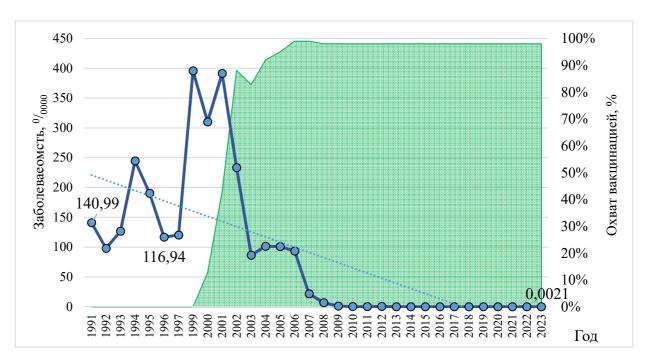
Установленная неравномерность территориального распределения в Российской Федерации, по-видимому, обусловлена особенностями выявления, учета и регистрации заболеваемости токсоплазмозом в регионах. Кроме того, данная ситуация может объясняться различными подходами, используемыми при этиологической расшифровке случаев заболевания токсоплазмозом в клинической практике, что обуславливает необходимость внедрения в существующие диагностические алгоритмы современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности и чувствительности, в частности молекулярно-биологических методов.

3.2 Особенности современной эпидемиологической ситуации по краснухе в Российской Федерации

В результате реализации масштабной программы элиминации краснухи и предупреждения СВК, включающей мероприятия по проведению специфической вакцинопрофилактики, проводимой на территории нашей страны, удалось достигнуть существенных успехов в снижении уровня заболеваемости данной инфекцией. Итоги 7-ого совещания Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи ВОЗ (13–15 июня 2018 года, город Париж, Франция) засвидетельствовали, что эндемичная передача вируса была прервана на территории нашей страны на протяжении 36 месяцев, при этом констатировано достижение элиминации данного заболевания [110]. В 2023 г. на

территории Российской Федерации был подтвержден статус элиминации краснухи [241]. Это стало возможным благодаря эффективному, скоординированному взаимодействию органов практического здравоохранения, Роспотребнадзора и научного сообщества.

Совершенствование эпидемиологического надзора за краснухой в Российской Федерации, организация и проведение специфической вакцинопрофилактики, осуществляемой в нашей стране с 1997 г., оказали значительное влияние на эпидемический процесс этой инфекции, что обеспечило многократное снижение заболеваемости в более, чем 55 тыс. раз (1996 г. – $116,94^{0}/_{0000}$ (согласно данным ВОЗ); 2023 г. $-0,0021^{0}/_{0000}$ (рисунок 3.19).



П р и м е ч а н и е — Данные по заболеваемости краснухой в 1998 г. не представлены. До 2007 г. использованы данные ВОЗ [242]

Рисунок 3.19 — Динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации в $1991{-}2023~\text{гг.}~(^0\!/_{0000})$

Для оценки эпидемиологической ситуации по краснухе на территории Российской Федерации за период с 2009 по 2023 гг. в целом, по федеральным

округам и отдельным субъектам проведен ретроспективный анализ динамики уровня, структуры и территориального распределения заболеваемости этой инфекцией на основе официальных статистических данных. По данным формы №2 Федерального государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в 2007–2023 гг. в Российской Федерации ежегодно регистрировали до 30 846 случаев краснухи.

Ретроспективный анализ многолетней динамики заболеваемости краснухой за 17-летний (2007-2023 гг.) период наблюдения свидетельствует о выраженном ее снижении на территории Российской Федерации. Показатели заболеваемости краснухой за анализируемый временной промежуток находились в пределах 21,65 и $0.0021^{0}/_{0000}$ в 2007 и 2023 гг. соответственно (рисунок 3.20).

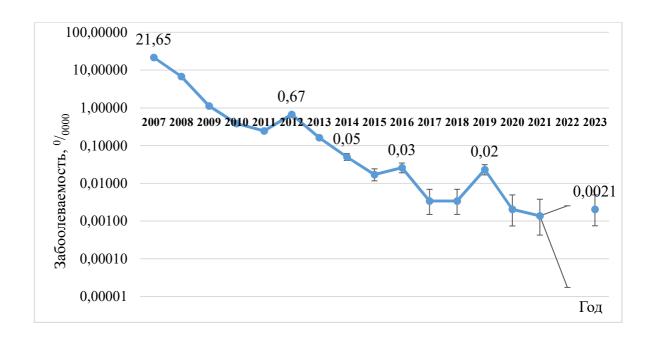


Рисунок 3.20 — Динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации в $2007{-}2023~\text{гг.}~(^0\!/_{0000})$

Многолетняя динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации за изучаемый временной период демонстрировала экспоненциальный характер падения (R^2 =0,907). Абсолютная убыль заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2007 г. составила -21,65 0 /0000, темп убыли -100%. За последние 10 лет (2014—2023

гг.) тенденция к снижению в многолетней динамике заболеваемости краснухой сохранялась, показатель заболеваемости снизился в 23,81 раз с $0.05^{0}/_{0000}$ (2014 г.) до $0.0021^{0}/_{0000}$ (2023 г.) (p<0.0001). Абсолютная убыль заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2014 г. составила $-0.05^{0}/_{0000}$, темп убыли -95.80%. (рисунок 3.20). таблица 3.10).

В многолетней динамике заболеваемости за период с 2011 по 2023 гг. в Российской Федерации зарегистрировано три подъема заболеваемости краснухой: в 2012 г. $(0,67^{0}/_{0000})$, 2016 г. $(0,03^{0}/_{0000})$ и 2019 г. $(0,0232^{0}/_{0000})$. В 2021 г. в стране установлен исторический минимум — зарегистрирован только один случай краснухи $(0,0014^{0}/_{0000})$. В 2022 г. не зарегистрировано ни одного случая краснухи. В 2023 г. на территории Российской Федерации зарегистрировано всего 3 случая заболевания краснухой $(0,0021^{0}/_{0000})$.

Таблица 3.10 – Заболеваемость краснухой в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	краснухой, ⁰ / ₀₀₀₀	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2007	21,65	_	_	_
2008	6,77	-14,88	31,3	-68,7
2009	1,13	-5,64	16,7	-83,3
2010	0,39	-0,74	34,5	-65,5
2011	0,24	-0,15	61,5	-38,5
2012	0,67	0,43	279,2	179,2
2013	0,16	-0,51	23,9	-76,1
2014	0,05	-0,11	31,3	-68,8
2015	0,02	-0,03	40,0	-60,0
2016	0,03	0,01	130,0	30,0
2017	0,0034	-0,02	13,1	-86,9
2018	0,0034	0,00	100,0	0,0
2019	0,0232	0,02	682,4	582,4

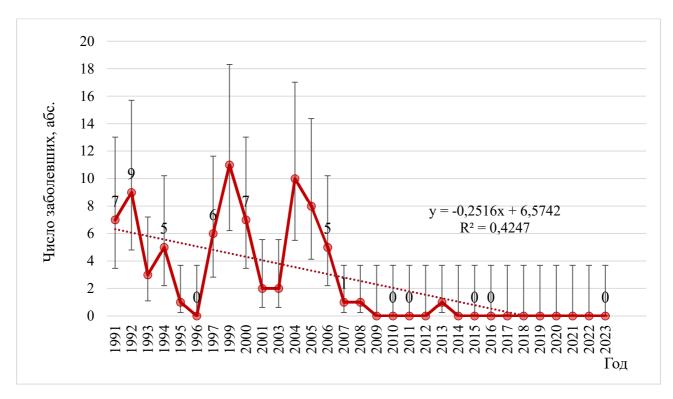
Продолжение таблицы 3.10

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	краснухой, ⁰ / ₀₀₀₀	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2020	0,0021	-0,02	9,1	-90,9
2021	0,0014	0	66,7	-33,3
2022	0	0	0	-100,0
2023	0,0021	0,0021		

По среднемноголетним данным уровень заболеваемости краснухой в стране в 2007–2013 гг. составлял $1,80^{0}/_{0000}$. В 2014–2023 гг. данный показатель снизился в 341,54 раз по сравнению с периодом 2007–2013 гг. (0,013 и $4,44^{0}/_{0000}$ соответственно).

За 17-летний (2007—2023 гг.) период наблюдения в Российской Федерации зарегистрировано 16 случаев СВК, что составило 19,28% от всех случаев СВК, зарегистрированных с 1991 г. (83 случая) на территории нашей страны. Наибольшее число случаев СВК за временной период с 1991 г. по 1996 г. зарегистрировано в 1992 г. (9 случаев, 10,84%), с 1997 г. по 2006 г. – в 2000 г. (11 случаев, 13,25%), с 2007 г. по 2015 г. – 2007 г. (8 случаев, 9,64%). В 2011 г., 2012 г., 2013 г., 2014 г. и далее с 2016 г. в Российской Федерации не зарегистрировано ни одного случая СВК (рисунок 3.21).

В 2015 г. зарегистрирован один случай СВК у ребенка в возрасте до года в Астраханской области Южного федерального округа (город Астрахань). Установлен генотип штамма вируса краснухи — 2В, при проведении генотипирования доказана связь эпидемиологического характера с импортированием [111].



 Π р и м е ч а н и е — Данные по заболеваемости СВК за 1998 и 2002 гг. не представлены

Рисунок 3.21 — Динамика заболеваемости СВК в Российской Федерации в 1991— 2023 гг., абс.

Абсолютная убыль заболеваемости СВК в 2023 г. по сравнению с 2007 г. составила $-0.01^{0}/_{0000}$ населения, темп убыли -100% (таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Заболеваемость СВК в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	CBK, $^{0}/_{0000}$	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2007	0,01	_	_	_
2008	0,0035	-0,0065	35,24	-64,76
2009	0,0007	-0,0028	20,01	-79,99
2010	0,0007	0	0	0
2011	0	-0,0007	-100	-100
2012	0	0	0	0

Продолжение таблицы 3.11

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	CBK, ⁰ / ₀₀₀₀	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2013	0	0	0	0
2014	0	0	0	0
2015	0,0007	0,0007	100	100
2016	0	-0,0007	-100	-100
2017	0	0	0	0
2018	0	0	0	0
2019	0	0	0	0
2020	0	0	0	0
2021	0	0	0	0
2022	0	0	0	0
2023	0	0	0	0

Среднемноголетние показатели заболеваемости СВК в Российской Федерации составляли: $0,0015^0/_{0000}$ в 2007-2013 гг. и $0,000068^0/_{0000}$ в 2014-2023 гг.

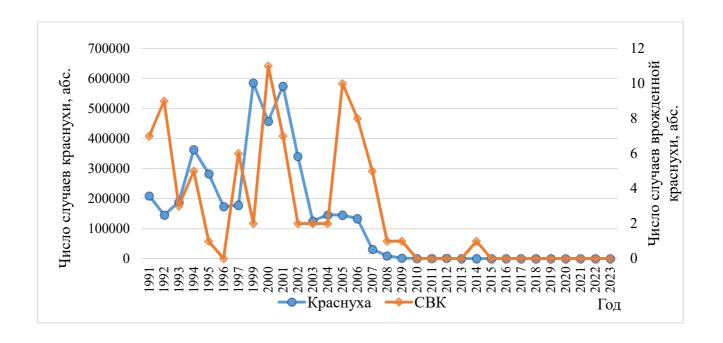


Рисунок 3.22 — Динамика заболеваемости краснухой и СВК в Российской Федерации в 1991–2023 гг., абс.

На рисунке 3.22 представлена динамика заболеваемости краснухой и СВК в Российской Федерации в 1991-2023 гг. Установлена корреляционная зависимость средней силы между числом заболеваний краснухой и СВК с коэффициентом корреляции равным 0,546 (p=0,001).

При анализе данных с 2003 г. по 2023 г. выявлено, что отношение числа случаев СВК (n=32) к числу случаев краснухи (n=594 065) за данный временной период наблюдения составило 0,0054%, 95% ДИ [0,0038–0,0074%] (таблица 3.12), что в 24,07 раз ниже расчетного показателя при использовании активного поиска СВК по модели ВОЗ, согласно которой число случаев СВК на территории должно составлять 0,13% от числа зарегистрированных случаев приобретенной краснухи. При этом, отмечена тенденция к росту в 54 раза отношения числа зарегистрированных случаев СВК и краснухи в Российской Федерации: за период с 1991 по 1999 гг., данное отношение равно 0,0016%, 95% ДИ [0,0011–0,0021%], за 2000–2009 гг. (2002 г. исключен в связи с отсутствием данных) – 0,0025%, 95% ДИ [0,0018–0,0033%], за 2010–2021 гг. – 0,0864%, 95% ДИ [0,0267–0,2407%].

Таблица 3.12 — Отношение заболеваемости краснухой и СВК в Российской Федерации в 1991–2023 гг.

Период	Число случаев, абс.		Отношение, %	95% ДИ, %
наблюдения, год	краснуха	СВК		
1991	209051	7	0,0033	0,0017–0,0062
1992	145700	9	0,0062	0,0033-0,0108
1993	188309	3	0,0016	0,0006-0,0038
1994	362985	5	0,0014	0,0006-0,0028
1995	282560	1	0,0004	0,0001-0,0013
1996	173408	0	0	0-0,0021
1997	178115	6	0,0034	0,0016-0,0065
1998	_*	_*		
1999	585063	2	0,0003	0,0001–0,0010

Продолжение таблицы 3.12

Период	Число случ	наев, абс.	Отношение, %	95% ДИ, %			
наблюдения, год	краснуха	СВК					
2000	457378	11	0,0024	0,0014-0,0040			
2001	574901	7	0,0012	0,0006-0,0023			
2002	341345	_*					
2003	125187	2	0,0016	0,0005-0,0044			
2004	146220	2	0,0014	0,0004-0,0038			
2005	144985	2	0,0014	0,0004-0,0038			
2006	133289	10	0,0075	0,0041-0,0128			
2007	30846	8	0,0259	0,0134-0,0466			
2008	9618	5	0,0520	0,0229-0,1062			
2009	1602	1	0,0624	0,0151-0,2298			
2010	547	1	0,1828	0,0443-0,6731			
2011	349	0	0	0,0025-0,3682			
2012	1003	0	0	0,0025-0,3682			
2013	233	0	0	0,0109-1,5707			
2014	72	0	0	0,0352-4,9944			
2015	25	1	4,0	0,9840-13,7185			
2016	38	0	0	0,0666–9,2513			
2017	5	0	0	0,5051-52,1824			
2018	5	0	0	0,5051-52,1824			
2019	34	0	0	0,0744–10,2818			
2020	3	0	0	0,8404–70,7598			
2021	1	0	0	2,50–97,50			
2022	0	0	-	_			
2023	3	0	0	0,8404–70,7598			
Примеча	Примечание – * – данные не представлены						

На рисунке 3.23 представлено распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости краснухой в 2014—2023 гг. Ретроспективный анализ заболеваемости краснухой за 10-летний (2014—2023 гг.) период наблюдения

позволил установить, что в указанном периоде на 90% территорий страны случаи заболевания данной инфекции не регистрировались.

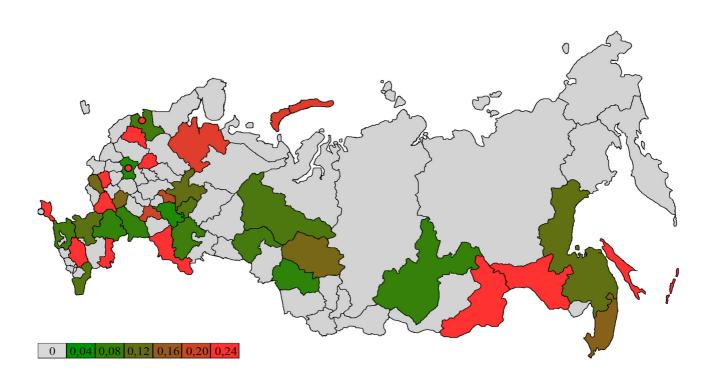
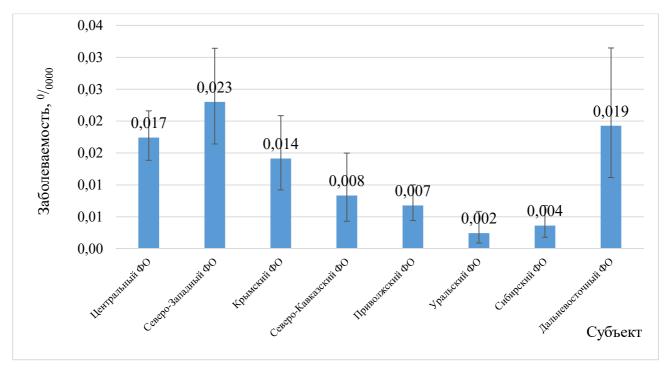


Рисунок 3.23 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости краснухой в 2014—2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)

Территориальное распределение заболеваемости краснухой за период с 2014 по 2023 гг. показало, что лидирующую позицию по уровню заболеваемости краснухой в Российской Федерации занимал Северо-Западный федеральный округ $(0.023^{0}/_{0000})$ с превышением среднероссийского показателя $(0.013^{0}/_{0000})$ в 1,77 раза (рисунок 3.24).

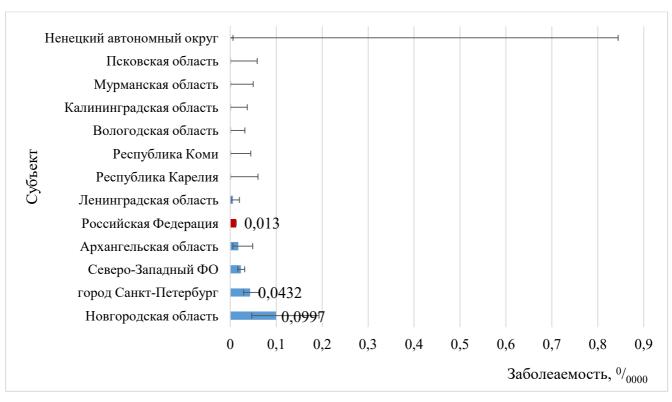


П р и м е ч а н и е — Φ О — федеральный округ

Рисунок 3.24 — Распределение заболеваемости краснухой по федеральным округам Российской Федерации в 2014—2023 гг.

В Северо-Западном федеральном округе ведущие места по уровню заболеваемости краснухой принадлежали Новгородской области и городу Санкт-Петербургу. В данных субъектах Российской Федерации установлен среднемноголетний показатель заболеваемости краснухой равный 0,0997 и $0,0432^{0}/_{0000}$, превышавший среднероссийский уровень $(0,013^{0}/_{0000})$ в 7,67 и 3,32 раз соответственно (p<0,0001) (рисунок 3.25).

Заболеваемость краснухой детского (от 0 до 17 лет включительно) и взрослого (от 18 лет и старше) населения в Российской Федерации в 2007–2023 гг. характеризовались однонаправленной тенденцией к снижению (рисунок 3.26).



Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.25 — Распределение заболеваемости краснухой в субъектах Северо-Западного федерального округа в 2014—2023 гг.

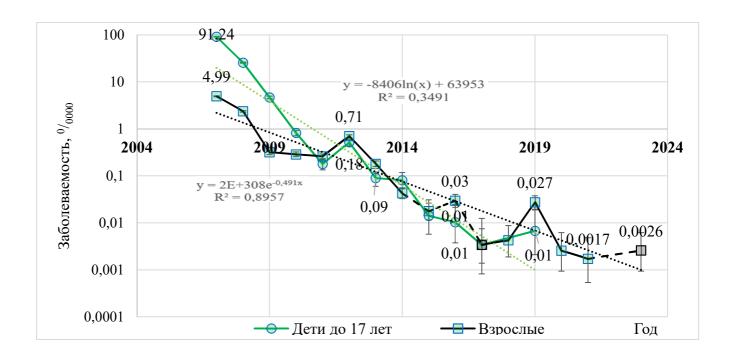


Рисунок 3.26 — Динамика заболеваемости краснухой детского и взрослого населения в Российской Федерации в 2007—2023 гг.

Показатели заболеваемости данной инфекцией среди взрослых за изучаемый временной период варьировали от $4,99^{0}/_{0000}$ (2007 г.) до $0,026^{0}/_{0000}$ (2023 г.). В Российской Федерации в 2011-2023 гг. зарегистрировано три подъема заболеваемости краснухой среди взрослых: в 2012 г. $(0,71^{0}/_{0000})$, 2016 г. $(0,03^{0}/_{0000})$ и 2019 г. $(0,027^{0}/_{0000})$. В 2021 г. зарегистрирован только один случай краснухи $(0,0017^{0}/_{0000})$ в Республике Татарстан (Татарстан) Приволжского Федерального округа, в 2022 г. не зарегистрировано ни одного случая краснухи. В 2023 г. на территории Российской Федерации только в городе Москве Центрального федерального округа зарегистрировано 3 случая заболевания краснухой среди взрослого населения $(0,0026^{0}/_{0000})$. Среднемноголетний показатель заболеваемости краснухой взрослого населения в Российской Федерации в 2007-2023 гг. составил $1,30^{0}/_{0000}$, а в 2014-2023 гг. $-0,0133^{0}/_{0000}$.

Показатели заболеваемости краснухой среди детей в возрасте 0–17 лет включительно в Российской Федерации в 2007–2023 гг. варьировали от $91,24^0/_{0000}$ (2007 г.) до $0,01^0/_{0000}$ (2019 г.) (рисунок 3.26, таблица 3.13). В 2018 г., 2020–2023 гг. не зарегистрировано ни одного случая краснухи среди детского населения.

Среднемноголетний показатель заболеваемости краснухой детей в возрасте 0-17 лет включительно в Российской Федерации в 2007-2023 гг. составил $18,27^0/_{0000}$, а в 2014-2023 гг. $-0,0108^0/_{0000}$.

Таблица 3.13 — Заболеваемость краснухой детей в возрасте 0–17 лет в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения,	краснухой детского	прирост/убыль,	роста/	прироста/
год	населения, $^{0}/_{0000}$	0/0000	снижения, %	убыли, %
2007	91,24	_	_	_
2008	25,69	-65,55	28,2	-71,8
2009	4,69	-21,00	18,3	-81,7
2010	0,82	-3,87	17,5	-82,5

Продолжение таблицы 3.13

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения,	краснухой детского	прирост/убыль,	роста/	прироста/
год	населения, ⁰ / ₀₀₀₀	0/0000	снижения, %	убыли, %
2011	0,18	-0,64	22,0	-78,1
2012	0,52	0,34	288,9	188,9
2013	0,09	-0,43	17,3	-82,7
2014	0,08	-0,01	88,9	-11,1
2015	0,01	-0,07	12,5	-87,5
2016	0,01	0	100,0	0
2017	0,004	-0,006	40,0	-60,0
2018	0	-0,004	0	-100,0
2019	0,01	0,010	100,0	100,0
2020	0	-0,010	0	-100,0
2021	0	0	0	0
2022	0	0	0	0
2023	0	0	0	0

Многолетняя динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации у детей разных возрастных групп имела однонаправленный характер (рисунок 3.27). Максимальный уровень заболеваемости краснухой детей первого года жизни (грудного возраста) за анализируемый 17-летний временной период отмечался в $2007 \, \text{г.} \, (161,64^0/_{0000}), \, \text{c} \, 2015 \, \text{г.}$ не зарегистрировано ни одного случая (рисунок 3.27).

Среднемноголетний уровень заболеваемости краснухой детей в возрасте 1-2 года в Российской Федерации в 2014-2023 гг. составил $0,0375^0/_{0000}$. При этом, данный показатель превышал среднемноголетние уровни заболеваемости этой инфекцией детского населения других возрастных групп и взрослых в 3,10-8,15 и 2,82 раз (p<0,001) соответственно (рисунок 3.28).

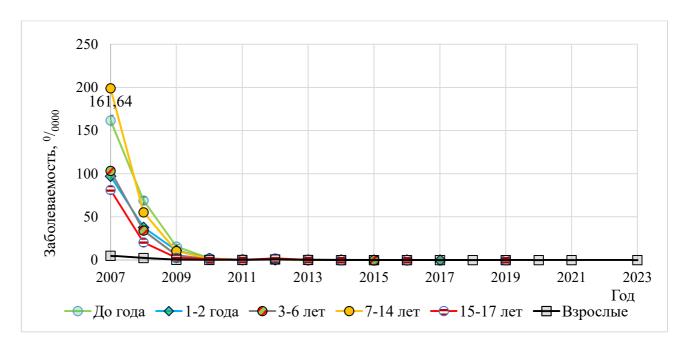


Рисунок 3.27 — Динамика заболеваемости краснухой детского населения различных возрастных групп и взрослых в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

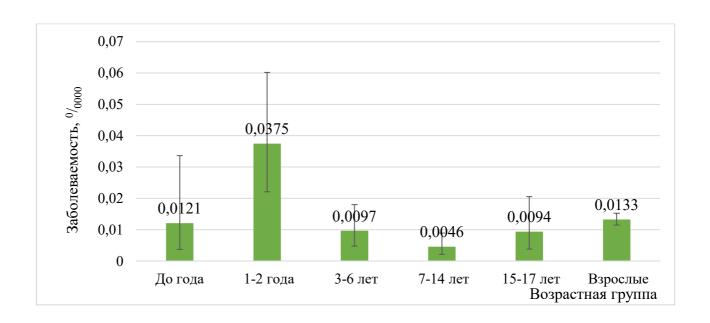


Рисунок 3.28 — Среднемноголетний уровень заболеваемости краснухой детского населения различных возрастных групп и взрослых в Российской Федерации в 2014—2023 гг.

Одним из основных критериев оценки эпидемиологической ситуации является характеристика динамики возрастной структуры заболеваемости.

Проведение вакцинопрофилактики против краснухи в последние десятилетия внесло коррективы в динамику возрастной структуры заболевших этой инфекцией. Сравнительный анализ возрастной структуры заболеваемости краснухой среди детского (0–17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения в Российской Федерации в изучаемый период позволил выявить рост в 4,81 раза удельного веса взрослых среди заболевших в 2014–2023 гг. (82,89%) по сравнению с периодом 2007–2013 гг. (17,25%) (рисунок 3.29). Последнее может быть обусловлено наличием проблем, связанных с организацией и проведением мероприятий по иммунопрофилактике этой инфекции среди взрослого населения.

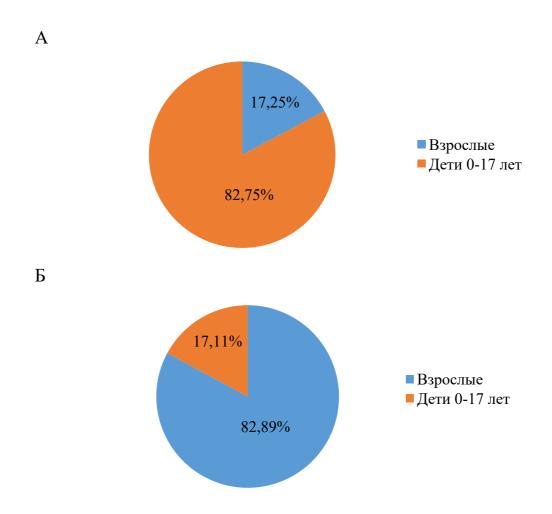


Рисунок 3.29 — Удельный вес взрослого и детского населения в возрастной структуре заболеваемости краснухой в Российской Федерации в 2007–2013 гг. (А) и 2014–2023 гг. (Б)

Анализ возрастной структура показал, что среди детского населения, заболевшего краснухой, в 2007-2013 гг. преобладали дети в возрасте 7-14 лет (55,70%), а в 2014-2023 гг. -1-2 года (40,63%) (рисунок 3.30). Как следует из рисунка 3.30, удельный вес детей в возрасте до года, заболевших краснухой, в 2014-2023 гг. (6,25%) снизился в 1,34 раза по сравнению с временным периодом 2007-2013 гг. (8,37%).

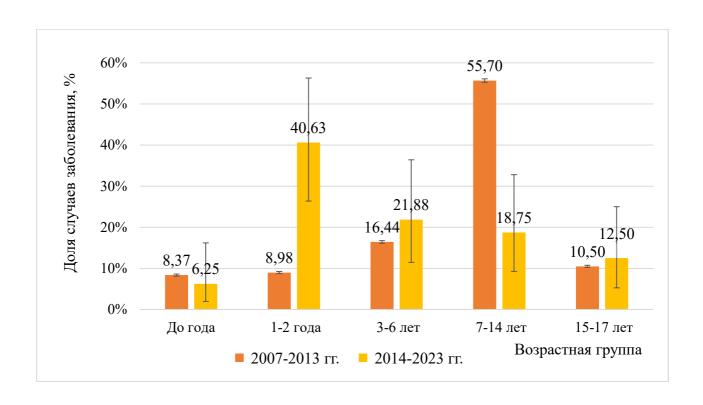
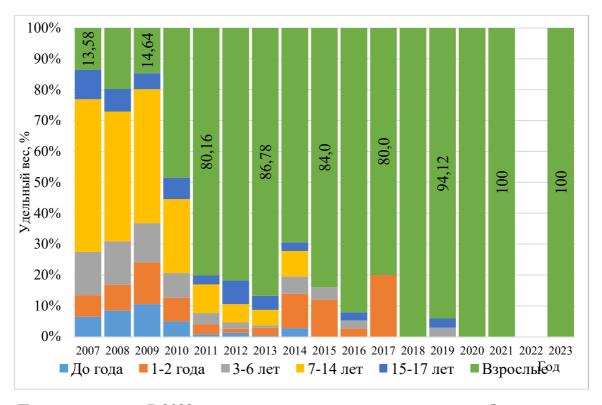


Рисунок 3.30 — Возрастная структура заболеваемости краснухой детского населения в Российской Федерации в 2007—2013 и 2014—2023 гг.

Аналогичная тенденция наблюдалась и среди детей в возрасте 7–14 лет, где установлено снижение данного показателя в 2,97 раза с 55,7% в периоде 2007–2013 гг. до 18,75% в период 2014–2023 гг. Среди детей в возрасте 1–2 года, 3–6 лет, 15–17 лет выявлено увеличение удельного веса в 4,53; 1,33; 1,19 раза в 2014–2023 гг. по сравнению с 2007–2013 гг. соответственно, что, по-видимому, также связано с недостатками в организации мероприятий по специфической вакцинации краснушной инфекции.

В целом, за весь 17-летний (2007–2023 гг.) период наблюдения установлен рост в 7,36 раз удельного веса взрослого населения среди заболевших краснухой: с 13,58% (2007 г.) до 100% (2023 г.) (рисунок 3.31). Существенной особенностью эпидемического процесса краснушной инфекции в последние четыре года является отсутствие регистрации случаев заболевания среди детского населения в возрасте от 0 до 17 лет, а также отсутствие регистрации случаев краснухи на территории страны в 2022 г. (рисунок 3.31).



 Π р и м е ч а н и е - В 2022 г. не зарегистрировано ни одного случая заболевания краснухой

Рисунок 3.31 — Динамика распределения удельного веса детского и взрослого населения в возрастной структуре заболеваемости краснухой в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Из 44 343 случаев заболевания краснухой, зарегистрированных в Российской Федерации в 2007—2023 гг., 7173 случаев приходилось на жителей сельских поселений. Из рисунка 3.32 следует, что среди заболевших краснухой за 17-летний

период наблюдения преобладали городские жители (83,82%). Доля жителей сельских поселений составила 16,18%.

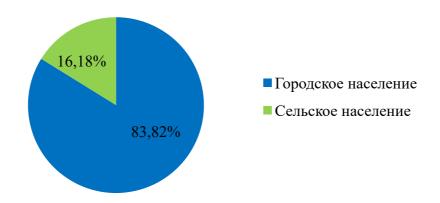


Рисунок 3.32 – Удельный вес городского и сельского населения среди заболевших краснухой в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Установлено достоверное снижение в 2,16 раза доли случаев заболевания краснухой среди жителей сельских поселений за период 2014–2023 гг. (7,49%; 95% ДИ [4,51–12,17%]) по сравнению с периодом 2007–2013 гг. (16,21%; 95% ДИ [15,87–16,56%]) (<math>p=0,0005). Тенденции в динамике заболеваемости краснухой городских жителей и жителей сельских поселений носили однонаправленный характер, при этом уровень заболеваемости среди сельских жителей ниже, чем городских (рисунок 3.33).

Из 16 случаев заболеваемости СВК, зарегистрированных в Российской Федерации в 2007—2023 гг., 3 случая приходилось на жителей сельских поселений. При анализе удельного веса сельского и городского населения среди заболевших краснухой за 17-летний период наблюдения установлено преобладание городских жителей (81,25%), доля жителей сельских поселений составила 18,75% (рисунок 3.34).

За период с 2007 по 2023 гг. в Российской Федерации зарегистрированы один случай смерти от краснухи $(0.02^{0}/_{0000})$, Республика Башкортостан Приволжского федерального округа, 2007 г.) и один случай смерти от СВК $(0.00069^{0}/_{0000})$, Астраханская область Южного федерального округа, 2015 г.).

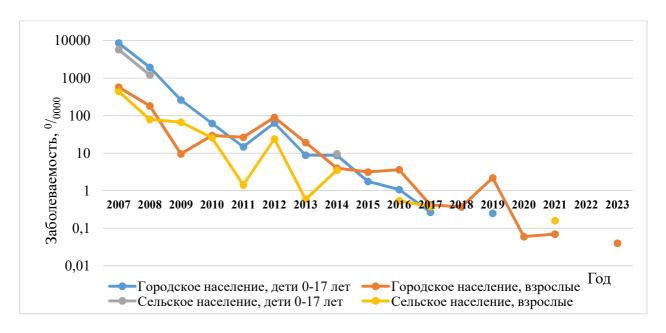


Рисунок 3.33 — Динамика заболеваемости краснухой городского и сельского населения в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

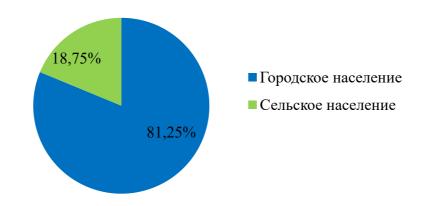


Рисунок 3.34 — Удельный вес городского и сельского населения среди заболевших СВК в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Таким образом, в Российской Федерации в результате реализации масштабной программы элиминации краснухи и предупреждения СВК достигнуто многократное снижение уровня заболеваемости краснухой населения в более, чем 55 тыс. раз (1996 г. – $116,94^{0}/_{0000}$ (согласно данным ВОЗ), 2023 г. – $0,0021^{0}/_{0000}$), с 2016 г. не зарегистрировано ни одного случая СВК. За изучаемый 17-летний (2007–2023 гг.) временной период в стране зарегистрировано 44 343 случая заболевания

краснухой и 16 случаев СВК. Многолетняя динамика заболеваемости краснухой в Российской Федерации в 2007-2023 гг. демонстрировала экспоненциальный характер падения (R^2 =0,907). За 10-летний (2014—2023 гг.) период наблюдения на 90% территорий инфекция страны данная не регистрировалась. Среднемноголетний уровень заболеваемости краснухой и СВК снизился в 341,54 и 22,06 раз в 2014–2023 гг. по сравнению с периодом 2007–2013 гг. соответственно. При анализе территориального распределения заболеваемости краснухой за период с 2014 по 2023 гг. установлено превышение среднероссийского показателя $(0.013^{0}/_{0000})$ в 1,77 раза в Северо-Западном федеральном округе $(0.023^{0}/_{0000})$. В 2014–2023 среднемноголетний показатель Российской Федерации В ΓΓ. заболеваемости взрослых $(0.0133^{0}/_{0000})$ был в 1,23 раза выше, чем детей до 17 лет включительно $(0.0108^{0}/_{0000})$. В этот же временной период среднемноголетний показатель заболеваемости краснухой детей в возрасте 1-2 года $(0.0375^{\circ}/_{0000})$ превышал среднемноголетние уровни заболеваемости данной инфекцией среди детского населения других возрастных групп и взрослых в 3,10-8,15 и 2,82 раз (p < 0.001)соответственно. Сравнительный анализ возрастной структуры заболеваемости краснухой среди детского (0–17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения позволил выявить рост в 4,81 раза удельного веса взрослых среди заболевших в 2014–2023 гг. (82,89%) по сравнению с периодом 2007–2013 гг. (17,25%) с преобладанием городских жителей. В возрастной структуре заболеваемости краснухой детского населения в Российской Федерации в 2007-2013 гг. преобладали дети в возрасте 7–14 лет (55,70%), в 2014–2023 гг. – 1–2 года (40,63%) преимущественно городские жители, что, по-видимому, обусловлено недостатками в организации мероприятий по специфической вакцинации. За период с 2007 по 2023 гг. в Российской Федерации зарегистрированы по одному случаю смерти от краснухи (2007 г.) и СВК (2015 г.).

В целом, в настоящее время в Российской Федерации благодаря совершенствованию эпидемиологического надзора, организации и проведению специфической вакцинопрофилактики эпидемиологическая ситуация по краснухе благополучная, по данным за 2023 г. статус элиминации данного заболевания на

территории страны подтвержден. Регистрация единичных импортированных случаев краснухи на территории Российской Федерации в последние годы, а также расчетные данные отношения числа случаев СВК к числу случаев краснухи за период с 2003 г. по 2023 г., показали наличие существенных проблем связанных с выявлением случаев СВК (не менее, чем в 24,07 раз), что требует более активного внедрения в существующие диагностические алгоритмы современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности и чувствительности, в частности молекулярно-биологических методов.

3.3 Особенности современной эпидемиологической ситуации по цитомегаловирусной инфекции в Российской Федерации

Для оценки эпидемиологической ситуации по ЦМВБ, врожденной ЦМВИ на территории Российской Федерации за период с 2009 по 2023 гг. в целом, по федеральным округам, отдельным субъектам проведен ретроспективный анализ динамики уровня, структуры и территориального распределения заболеваемости на основе официальных статистических данных.

По данным формы №2 Федерального государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в Российской Федерации в 2009–2023 гг. ежегодно регистрировали от 867 до 2987 случаев ЦМВБ. В многолетней ретроспективной динамике заболеваемости ЦМВБ за последние 15 лет (2009–2023 гг.) отмечалась тенденция к снижению уровня заболеваемости. Темп снижения заболеваемости 0,06705±0,02043⁰/₀₀₀₀ или 4,71±1,44% от средней многолетней заболеваемости ЦМВБ (*p*=0,006). Показатель заболеваемости ЦМВБ в 2023 г. по сравнению с 2013 г. (пикового подъема) снизился в 1,7 раза и составил 1,23⁰/₀₀₀₀ (2013 г. – 2,09⁰/₀₀₀₀) (рисунок 3.35).

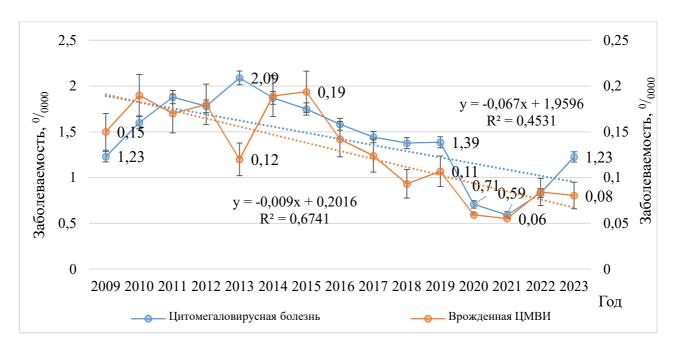


Рисунок 3.35 – Динамика заболеваемости ЦМВБ и врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2007–2023 гг.

Как следует из рисунка 3.35, многолетняя динамика заболеваемости ЦМВБ носила волнообразный характер с периодами подъемов и спадов. С 2009 до 2013 гг. отмечался рост заболеваемости данной инфекцией в 1,7 раза с 1,23 до $2,09^0/_{0000}$ (p<0,001). Абсолютный прирост заболеваемости в 2013 г. по сравнению с 2009 г. составил $0,86^0/_{0000}$, темп прироста 69,92%. В дальнейшем, с 2013 г. показатель заболеваемости ЦМВБ поступательно снижался и достиг $1,39^0/_{0000}$ к 2019 г. Абсолютная убыль заболеваемости в 2019 г. по сравнению с 2013 г. составила - $0,70^0/_{0000}$, темп убыли -33,49%.

В условиях пандемического распространения COVID-19 в стране уровень заболеваемости ЦМВБ снизился по сравнению с 2019 г. и составил $0.71^{0}/_{0000}$ (2020 г.) и $0.59^{0}/_{0000}$ (2021 г.). Самый низкий показатель заболеваемости данной инфекцией среди населения в Российской Федерации за изучаемый временной период зарегистрирован в 2021 г. ($0.59^{0}/_{0}$). В дальнейшем, начиная с 2021 г., наблюдался рост заболеваемости в 2,09 раза с $0.59^{0}/_{0000}$ (2021 г.) до $1.23^{0}/_{0000}$ (2023 г.) (p<0.001) (таблица 3.14).

Таблица 3.14 – Заболеваемость ЦМВБ в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения,	ЦМВБ, $^{0}/_{0000}$	прирост/убыль,	роста/	прироста/
год		0/0000	снижения, %	убыли, %
2009	1,23	_	_	_
2010	1,60	0,37	130,1	30,1
2011	1,88	0,28	117,5	17,5
2012	1,78	-0,10	94,7	-5,3
2013	2,09	0,31	117,4	17,4
2014	1,87	-0,22	89,5	-10,5
2015	1,75	-0,12	93,6	-6,4
2016	1,58	-0,17	90,3	-9,7
2017	1,44	-0,14	91,1	-8,9
2018	1,38	-0,06	95,8	-4,2
2019	1,39	0,01	100,7	0,7
2020	0,71	-0,68	51,1	-48,9
2021	0,59	-0,12	83,1	-16,9
2022	0,83	0,24	140,7	40,7
2023	1,23	0,40	148,2	48,2

Абсолютный прирост заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2020 г. составил $0.64^{0}/_{0000}$, темп прироста 108,47%. Среднемноголетний показатель заболеваемости ЦМВБ за указанный период времени составлял $1.42^{0}/_{0000}$.

По данным официальной статистики в Российской Федерации за период 2009—2023 гг. ежегодно регистрировали от 81 до 283 случаев врожденной ЦМВИ, показатель заболеваемости находился в пределах 0.15 и $0.08^{0}/_{0000}$ в 2009 и 2023 гг. соответственно (рисунок 3.35). При анализе многолетней динамики заболеваемости врожденной ЦМВИ населения Российской Федерации выявлено наличие прямолинейной тенденции к снижению уровня в среднем на $0.0897^{0}/_{0000}$ или 6.91% за год (R^2 =0.6741, p<0.001). Как следует из рисунка 3.35, с 2009 до 2015 гг. заболеваемость носила ассиметричный характер. Показатель заболеваемости

врожденной ЦМВИ за указанный период вырос в 1,27 раза и составил $0,19^{0}/_{0000}$ в 2015 г. В дальнейшем с 2015 г. $(0,19^{0}/_{0000})$ уровень заболеваемости врожденной ЦМВИ поступательно снижался и достиг значения $0,11^{0}/_{0000}$ к 2019 г. Абсолютная убыль заболеваемости в 2019 г. по сравнению с 2015 г. составила $-0,08^{0}/_{0000}$, темп убыли -42,11%. В последние годы, с 2020 г. по 2023 г., отмечен незначительный рост заболеваемости врожденной ЦМВИ в 1,33 раза (p<0,005) (таблица 3.15).

Таблица 3.15 — Заболеваемость врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009–2023~гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения,	врожденной ЦМВИ,	прирост/убыль,	роста/	прироста/
год	0/0000	0/0000	снижения, %	убыли, %
2009	0,15	_	-	_
2010	0,19	0,04	126,7	26,7
2011	0,17	-0,02	89,5	-10,5
2012	0,18	0,01	105,9	5,9
2013	0,12	-0,06	66,7	-33,3
2014	0,19	0,07	158,3	58,3
2015	0,19	0	100,0	0
2016	0,14	-0,05	73,7	-26,3
2017	0,12	-0,02	85,7	-14,3
2018	0,09	-0,03	75,0	-25,0
2019	0,11	0,02	122,2	22,2
2020	0,06	-0,05	54,5	-45,5
2021	0,06	0,00	100,0	0
2022	0,08	0,02	133,3	33,3
2023	0,08	0	100,0	0

Абсолютный прирост заболеваемости в 2023 г. $(0,08^{0}/_{0000})$ по сравнению с 2020 г. $(0,06^{0}/_{0000})$ составил $0,02^{0}/_{0000}$, темп прироста 33,33%. В период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.) отмечен самый низкий показатель заболеваемости

врожденной ЦМВИ среди населения Российской Федерации $(0,06^{0}/_{0000})$. Среднемноголетний показатель заболеваемости врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009–2023 гг. составлял $0,13^{0}/_{0000}$.

Существенной особенностью течения эпидемического процесса ЦМВИ являются данные, свидетельствующие о неравномерности территориального распределения как ЦМВБ (рисунок 3.36), так и врожденной ЦМВИ (рисунок 3.37) за анализируемый период по субъектам Российской Федерации (p<0,001).

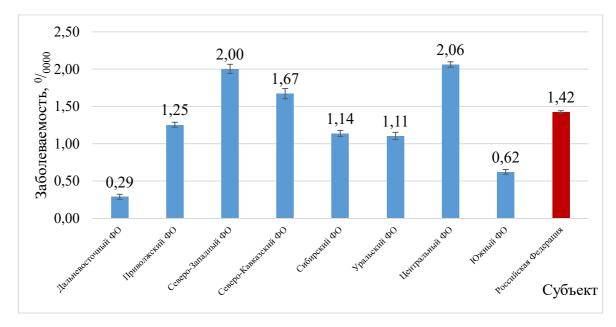


Рисунок 3.36 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости ЦМВБ в 2009–2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)



Рисунок 3.37 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости врожденной ЦМВИ в 2009—2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)

Лидирующие позиции по уровню заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009—2023 гг. занимали три федеральных округа: Центральный $(2,06^{0}/_{0000})$, Северо-Западный $(2,0^{0}/_{0000})$ и Северо-Кавказский $(1,67^{0}/_{0000})$, в которых установлено превышение среднероссийского показателя в 1,45, 1,41 и 1,18 раза, соответственно (p<0,0001) (рисунок 3.38).



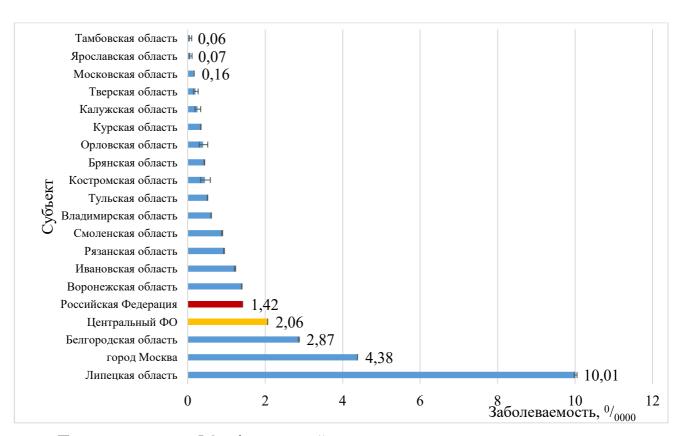
 Π р и м е ч а н и е $-\Phi$ О - федеральный округ

Рисунок 3.38 — Распределение заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009—2023 гг. в целом и по федеральным округам

Территориальное распределение заболеваемости ЦМВБ по субъектам Центрального, Северо-Западного и Северо-Кавказского федеральных округов среди населения за анализируемый временной промежуток было также крайне неравномерным.

Как следует из рисунка 3.39, приоритетное место по заболеваемости ЦМВБ в Центральном федеральном округе принадлежало Липецкой области, где среднемноголетний показатель превышал среднероссийское значение $(1,42^0/_{0000})$ в 7,05 раз и составлял $10,01^0/_{0000}$ (p<0,0001). В городе Москве и Белгородской области среднемноголетние уровни заболеваемости ЦМВБ были выше среднероссийского

показателя в 3,09 и 2,02 раза (p<0,0001), составляя 4,38 и 2,87 0 / $_{0000}$ соответственно. В числе субъектов с низким среднемноголетним показателем находились Тамбовская ($0,06^0$ / $_{0000}$), Ярославская ($0,07^0$ / $_{0000}$) и Московская ($0,16^0$ / $_{0000}$) области, где уровни заболеваемости ЦМВБ за изученный временной период были ниже, чем в городе Москве ($4,38^0$ / $_{0000}$) в 73, 62,57 и 27,38 раз (p<0,0001) соответственно. Имеющиеся региональные особенности в уровнях заболеваемости могут быть обусловлены качеством лабораторной диагностики ЦМВБ, организации мероприятий по учету и регистрации данной нозологической формы в различных регионах страны.

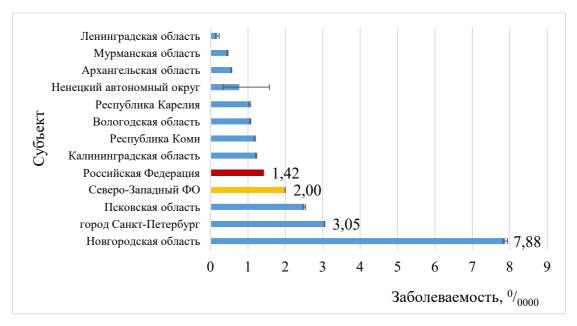


Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.39 — Распределение заболеваемости ЦМВБ в субъектах Центрального федерального округа в 2009–2023 гг.

Среди субъектов Северо-Западного федерального округа наибольшие среднемноголетние показатели заболеваемости этой инфекцией зарегистрированы

в Новгородской области $(7,88^{0}/_{0000})$ и городе Санкт-Петербурге $(3,05^{0}/_{0000})$. На данных территориях среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ превышал среднероссийский уровень $(1,42^{0}/_{0000})$ в 5,55 и 2,15 раз (p<0,0001), соответственно (рисунок 3.40).

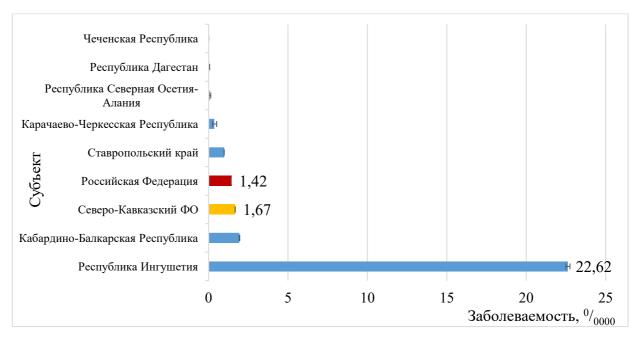


Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.40 — Распределение заболеваемости ЦМВБ в субъектах Северо-Западного федерального округа в 2009–2023 гг.

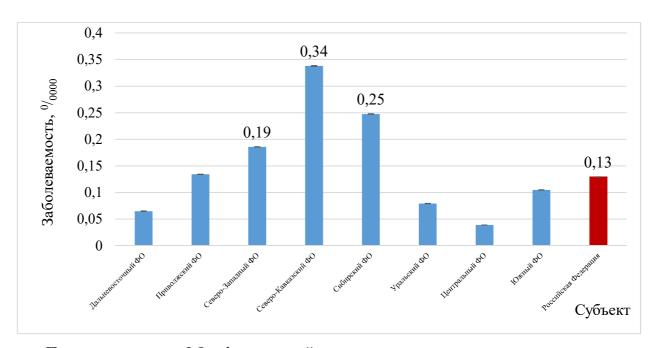
В Северо-Кавказском федеральном округе среднемноголетний показатель заболеваемости за анализируемый временной период в Республике Ингушетии превысил среднероссийский уровень в 15,93 раз (p<0,0001) и составил 22,62 0 / $_{0000}$ (рисунок 3.41).

Ведущие позиции по уровню заболеваемости врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009–2023 гг. занимали Северо-Кавказский $(0,34^0/_{0000})$, Сибирский $(0,25^0/_{0000})$ и Северо-Западный $(0,19^0/_{0000})$ федеральные округа с превышением среднероссийского показателя $(0,13^0/_{0000})$ в 2,62, 1,92 и 1,46 раза (p<0,0001) соответственно (рисунок 3.42).



Примечание – ФО – федеральный округ

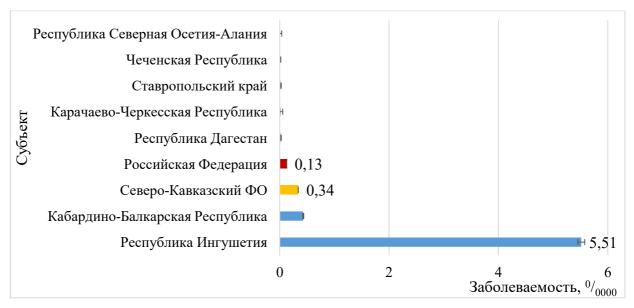
Рисунок 3.41 — Распределение заболеваемости ЦМВБ в субъектах Северо-Кавказского федерального округа в 2009–2023 гг.



Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.42 — Распределение заболеваемости врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009—2023 гг. в целом и по федеральным округам

При этом, в Северо-Кавказском федеральном округе среднемноголетний показатель заболеваемости врожденной ЦМВИ за анализируемый временной период в Республике Ингушетии, как и при ЦМВБ, превысил среднероссийский уровень заболеваемости в 42,39 раз (p<0,0001) и составил 5,51 0 / $_{0000}$ (рисунок 3.43).



Примечание – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.43 — Распределение заболеваемости врожденной ЦМВИ в субъектах Северо-Кавказского федерального округа в 2009–2023 гг.

Сравнительный анализ динамики возрастной структуры заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009-2023 гг. показал, что доля взрослого населения в указанный временной период увеличилась в 1,38 раза с 46,13% (2009 г.) до 63,59% (2023 г.) (p<0,0001). Наибольший удельный вес взрослых в возрастной структуре заболеваемости ЦМВБ зарегистрирован в 2021 г. (73,36%) (рисунок 3.44). Рост доли заболевших взрослых не связан с изменениями показателя заболеваемости: коэффициент корреляции Пирсона между этими данными имеет отрицательное значение (-0,25189). Тенденция к «повзрослению» заболеваемости ЦМВИ сохраняется и после 2023 г., о чем свидетельствует высокое значение коэффициента детерминации ($R^2=0,7734$).

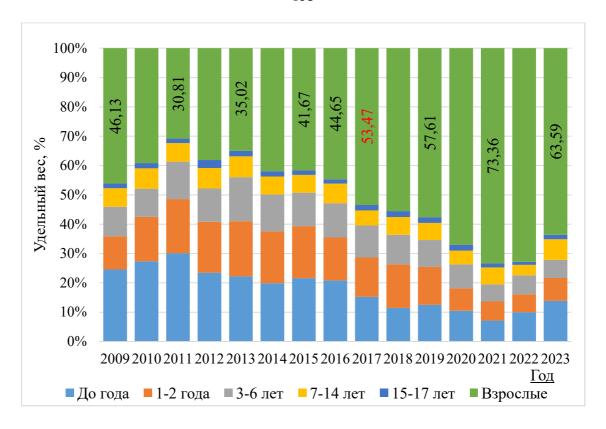


Рисунок 3.44 — Динамика распределения удельного веса детского и взрослого населения в возрастной структуре заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

В возрастной структуре заболевших врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009–2023 гг. преобладали дети до года (91,93%).

анализируемый временной период (2009-2023)гг.) тенденция заболеваемости ЦМВБ среди взрослого населения носила сглаженный характер, показатели заболеваемости варьировали от $0.69^{\circ}/_{0000}$ (2009 г.) до $0.98^{\circ}/_{0000}$ (2023 г.). динамике многолетней заболеваемости ЦМВБ отмечалась тенденция к снижению уровня заболеваемости этой инфекцией среди детского населения (рисунок 3.45). Тенденция заболеваемости ЦМВБ среди детского населения ассоциирована с наличием периодов подъема и спадов с пиковыми значениями $7,1^{0}/_{0000}$ (2011 г.) и $7,27^{0}/_{0000}$ (2013 г.) (рисунок 3.45). Показатели заболеваемости ЦМВБ среди детей в возрасте 0–17 лет включительно превышали в годы пикового подъема заболеваемости (2011 г., 2013 г.) уровень заболеваемости данной инфекцией у взрослых в 10 и 8,08 раз соответственно (рисунок 3.45).

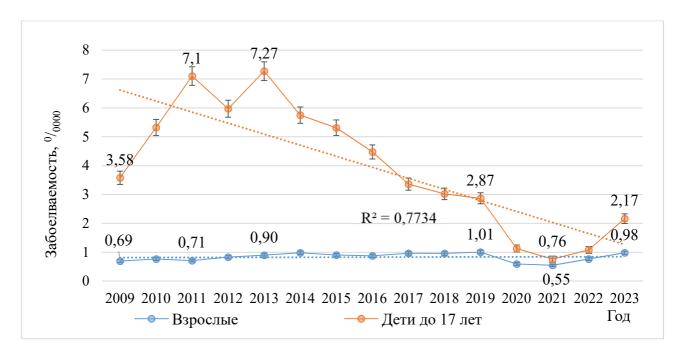


Рисунок 3.45 — Динамика заболеваемости ЦМВБ детского и взрослого населения в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Заболеваемость ЦМВБ из общего числа зарегистрированных заболеваний у детей в возрасте 0–17 лет включительно ($^0/_{0000}$) в Российской Федерации в 2009–2023 гг. представлена в таблице 3.16.

Таблица 3.16 — Заболеваемость ЦМВБ из общего числа зарегистрированных заболеваний у детей в возрасте до 17 лет включительно в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	ЦМВБ, ⁰ / ₀₀₀₀	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2009	3,58	_	_	_
2010	5,32	1,74	148,6	48,6
2011	7,10	1,78	133,5	33,5
2012	5,97	-1,13	84,1	-15,9
2013	7,27	1,30	121,8	21,8
2014	5,75	-1,52	79,1	-20,9

Продолжение таблицы 3.16

Период	Заболеваемость	Абсолютный	Показатель	Темп
наблюдения, год	ЦМВБ, ⁰ / ₀₀₀₀	прирост/убыль,	роста/	прироста/
		0/0000	снижения, %	убыли, %
2015	5,31	-0,44	92,3	-7,7
2016	4,47	-0,84	84,2	-15,8
2017	3,36	-1,11	75,2	-24,8
2018	3,02	-0,34	89,9	-10,1
2019	2,87	-0,15	95,0	-5,0
2020	1,13	-1,74	39,4	-60,6
2021	0,76	-0,37	67,3	-32,7
2022	1,08	0,32	142,1	42,1
2023	2,17	1,09	200,9	100,9

В 2021 г. среднероссийские показатели заболеваемости ЦМВБ среди детского и взрослого населения находились на минимальном уровне за весь 15-летний период наблюдений, составляя по сравнению с 2019 г. (периодом, предшествующим пандемии COVID-19 и введения массовых ограничительных мероприятий) 0.76 и $0.55^{0}/_{0000}$ (2019 г. -2.87 и $1.01^{0}/_{0000}$) соответственно (рисунок 3.45).

За последние три года (2021—2023 гг.) в Российской Федерации зарегистрирован рост показателей заболеваемости ЦМВБ как среди детского, так и взрослого населения. Среди детского населения уровень заболеваемости вырос в 2,86 раза с $0.76^{0}/_{0000}$ (2021 г.) до $2.17^{0}/_{0000}$ (2023 г.) с абсолютным приростом $1.41^{0}/_{0000}$ и темпом прироста 185.53%. Среди взрослого населения — в 1.78 раза с $0.55^{0}/_{0000}$ (2021 г.) до $0.98^{0}/_{0000}$ (2023 г.) с абсолютным приростом $0.43^{0}/_{0000}$ и темпом прироста 78.18%.

Среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации за анализируемый временной промежуток составил среди взрослых $0.83^{0}/_{0000}$, а детей в возрасте 0-17 лет включительно $-3.83^{0}/_{0000}$.

Сравнительный анализ динамики заболеваемости среди различных возрастных групп показал, что она носила сходный сглаженный характер с тенденцией к снижению во всех возрастных группах детского населения, за исключением подростков 15–17 лет (↑6,67%) (рисунок 3.46).

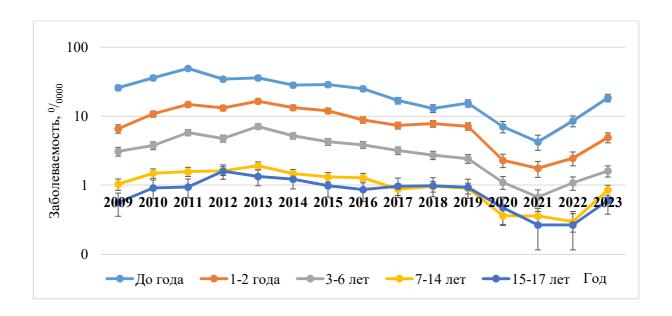


Рисунок 3.46 — Динамика заболеваемости ЦМВБ детского населения различных возрастных групп в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Уровень заболеваемости данной инфекцией за анализируемый временной период (2009–2023 гг.) снизился в возрастных группах детей до года, 1–2 года, 3–6 лет, 7–14 лет в 1,40; 1,34; 1,93; 1,22 раза соответственно (таблица 3.17).

Таблица 3.17 — Заболеваемость ЦМВБ детского населения различных возрастных групп, $^{0}/_{0000}$

Период	Возрастные группы				
наблюдения,	до года	1–2 года	3-6 лет	7–14 лет	15–17 лет
год					
2009	25,93	6,60	3,10	1,04	0,56
2010	36,03	10,82	3,77	1,50	0,92

Продолжение таблицы 3.17

Период	Возрастные группы				
наблюдения,	до года	1–2 года	3–6 лет	7–14 лет	15–17 лет
год					
2011	49,40	14,84	5,82	1,58	0,94
2012	34,63	13,18	4,77	1,62	1,60
2013	36,08	16,57	7,13	1,92	1,34
2014	28,33	13,37	5,21	1,48	1,23
2015	28,74	12,02	4,27	1,32	0,98
2016	25,02	8,84	3,85	1,28	0,87
2017	16,90	7,37	3,19	0,88	0,97
2018	13,02	7,82	2,73	0,97	0,98
2019	15,48	7,16	2,43	0,91	0,94
2020	7,09	2,31	1,10	0,36	0,47
2021	4,26	1,76	0,67	0,36	0,27
2022	8,56	2,47	1,08	0,30	0,27
2023	18,52	4,94	1,61	0,85	0,60
Среднее	23,86	8,85	3,26	1,05	0,85

Из таблицы 3.17 следует, что наиболее высокий среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ отмечен среди детей в возрасте до года (23,86%/0000), который превышал аналогичные параметры других возрастных групп (в 2,70–28,07 раз). Анализ соотношения показателей среднемноголетней заболеваемости ЦМВБ детей различных возрастных групп и взрослых показал значительную вариабельность (таблица 3.18).

Отношение среднемноголетней заболеваемости ЦМВБ между детским и взрослым населением в Российской Федерации за 15-летний (2009—2023 гг.) период изучения составило 4,654, однако в Чувашской Республике (Чувашия) данный показатель был 0, Владимирской области — 0,948, а Свердловской области — 98,129 (рисунок 3.47).

Таблица 3.18 — Отношение заболеваемости ЦМВБ детского населения различных возрастных групп и взрослых в субъектах Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Субъект	Заболевае-	Отношение	заболеваемости в	з возрастных
	мость		группах	
	ЦМВБ,	дети до 17	дошкольники/	дети до 1
	0/0000	лет включи-	школьники	года/ 1-6 лет
		тельно/		
		взрослые		
Республика Адыгея	2,114	6,276	2,327	2,364
Республика Алтай	1,898	13,774	10,228	5,602
Республика Башкортостан	0,299	3,846	5,591	1,941
Республика Бурятия	0,423	13,495	6,217	2,447
Республика Дагестан	0,040		5,310	10,627
Республика Ингушетия	22,618	13,242	11,238	22,936
Кабардино-Балкарская	1,945	134,193	44,753	15,426
Республика				
Республика Калмыкия	0,120	12,759	4,496	12,904
Карачаево-Черкесская	0,362	38,803	34,486	16,849
Республика				
Республика Карелия	1,051	20,160	9,352	3,839
Республика Коми	1,181	29,325	16,346	2,469
Республика Крым	0,150	158,149	5,937	3,026
Республика Марий Эл	0,156	27,019	8,158	6,137
Республика Мордовия	2,503	50,574	4,164	2,278
Республика Саха (Якутия)	0,076			7,353
Республика Северная Осетия –	0,076		10,148	2,346
Алания				
Республика Татарстан	1,581	26,724	32,392	14,581
Республика Тыва	0,229			58,912
Удмуртская Республика	4,902	219,540	14,360	6,127
Республика Хакасия	0,237	7,334	4,583	6,239
Алтайский край	1,191	7,448	3,541	3,896

Продолжение таблицы 3.18

Субъект	Заболевае-	Отношение	заболеваемости в	в возрастных	
	мость		группах		
	ЦМВБ,	дети до 17	дошкольники/	дети до 1	
	0/0000	лет включи-	школьники	года/ 1-6 лет	
		тельно/			
		взрослые			
Забайкальский край	1,690	0,193	0,847		
Камчатский край	1,548	94,030	11,110	3,261	
Краснодарский край	0,827	5,772	4,134	3,583	
Красноярский край	0,121	1,394	17,825	3,790	
Пермский край	2,118	5,547	8,291	3,391	
Приморский край	0,430	9,054	5,086	1,773	
Ставропольский край	0,982	27,764	4,284	0,605	
Хабаровский край	0,030	2,044	1,302		
Амурская область	0,091			28,190	
Архангельская область	0,558	6,309	7,272	2,004	
Астраханская область	1,789	119,440	4,790	0,768	
Белгородская область	2,865	9,511	7,034	2,150	
Брянская область	0,429	2,054	3,229	1,347	
Владимирская область	0,605	0,948	2,344	10,014	
Волгоградская область	0,097	10,476	2,020	5,489	
Вологодская область	1,062	17,346	3,773	1,346	
Воронежская область	1,394	3,148	3,088	0,931	
Ивановская область	1,221	5,854	1,716	1,881	
Иркутская область	2,129	11,161	8,482	2,481	
Калининградская область	1,219	2,416	9,930	3,385	
Калужская область	0,251	11,446	3,938	4,951	
Кемеровская область — Кузбасс	0,246	28,186	6,067	1,296	
Кировская область	1,689	50,282	8,341	2,658	
Костромская область	0,443	2,484	0,854	1,252	
Курганская область	0,332	5,979	10,817	3,999	
Курская область	0,335	7,015	2,677	1,807	
	1	l	ı		

Продолжение таблицы 3.18

Субъект	Заболевае-	Отношение	заболеваемости в	возрастных
	мость	группах		
	ЦМВБ,	дети до 17	дошкольники/	дети до 1
	0/0000	лет включи-	школьники	года/ 1-6 лет
		тельно/		
		взрослые		
Ленинградская область	0,179	5,587	2,690	19,663
Липецкая область	10,014	15,832	102,639	16,564
Магаданская область	0,181	11,889		12,663
Московская область	0,160	3,967	3,208	1,879
Мурманская область	0,453	66,987	3,670	1,614
Нижегородская область	2,143	1,407	2,191	5,267
Новгородская область	7,885	35,064	3,604	0,599
Новосибирская область	1,376	1,567	6,360	18,657
Омская область	1,116	6,015	11,931	4,865
Оренбургская область	0,087	7,044	6,499	0,473
Орловская область	0,395	1,893	18,058	31,299
Пензенская область	2,002	2,779	5,299	4,562
Псковская область	2,507	0,019		
Ростовская область	0,323	4,882	4,698	1,167
Рязанская область	0,936	16,779	1,637	1,258
Самарская область	0,331	8,903	19,074	17,689
Саратовская область	0,515	0,689	17,114	9,755
Сахалинская область	0,339	45,039	9,019	3,215
Свердловская область	1,430	98,129	13,065	1,107
Смоленская область	0,885	26,280	17,971	12,987
Тамбовская область	0,058	10,159	0,788	6,247
Тверская область	0,200	2,597	3,592	1,556
Томская область	3,369	78,566	12,074	2,741
Тульская область	0,511	8,501	51,275	5,048
Тюменская область	0,028	6,432	5,262	0,854
Ульяновская область	0,043	7,812	2,137	12,159

Продолжение таблицы 3.18

Субъект	Заболевае-	- Отношение заболеваемости в возрастных		
	мость	группах		
	ЦМВБ,	дети до 17	дошкольники/	дети до 1
	0/0000	лет включи-	школьники	года/ 1-6 лет
		тельно/		
		взрослые		
Челябинская область	0,710	5,684	5,560	2,217
Ярославская область	0,069	7,280	1,392	6,179
город Москва	4,379	0,860	7,609	3,682
город Санкт-Петербург	3,049	2,794	4,536	2,059
город Севастополь	0			
Еврейская автономная область	0,160	3,516		6,248
Ненецкий автономный округ	0,772			1,524
Ханты-Мансийский	0,583	11,579	7,016	2,191
автономный округ — Югра				
Чукотский автономный округ	0,937			2,619
Ямало-Ненецкий автономный	6,659	75,887	29,407	5,051
округ				

Также по Российской Федерации в целом, отношение среднемноголетней заболеваемости дошкольников и школьников составило 7,793, однако в Липецкой области данный показатель равен 102,639, Тамбовской области — 0,788 (рисунок 3.48).

Отношение среднемноголетней заболеваемости ЦМВБ между двумя возрастными группами детей в возрасте до года и 1–6 лет составило 4,659. При этом, в Тюменской области данный показатель равен 0,854, Орловской области – 31,299, Республике Тыва – 58,912 (рисунок 3.49).

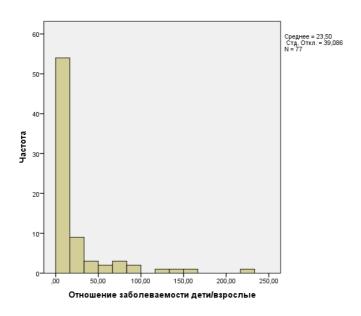


Рисунок 3.47 — Отношение заболеваемости ЦМВБ детей в возрасте до 17 лет включительно и взрослых в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

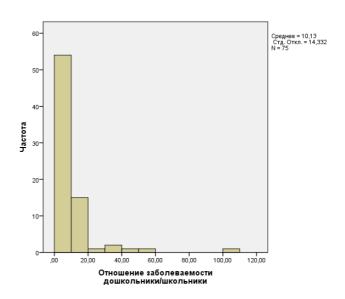


Рисунок 3.48 — Отношение заболеваемости ЦМВБ детей школьного возраста и дошкольников в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Значительный разброс в отношении заболеваемости населения разных возрастных групп свидетельствует о том, что выявление, учет и регистрация случаев заболевания ЦМВБ значительно различаются между субъектами

Российской Федерации, это может быть обусловлено качеством лабораторной диагностики на местах.

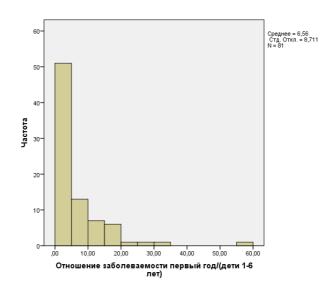


Рисунок 3.49 — Отношение заболеваемости ЦМВБ детей в возрасте до года и 1—6 лет в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Из 30 936 случаев заболеваний ЦМВБ, зарегистрированных за 15-летний (2009—2023 гг.) период наблюдения в Российской Федерации, только 3199 случаев приходилось на жителей сельских поселений. При анализе удельного веса сельского и городского населения среди заболевших ЦМВБ за указанный период установлено преобладание городских жителей (89,66%), доля жителей сельских поселений составила 10,34% (рисунок 3.50).

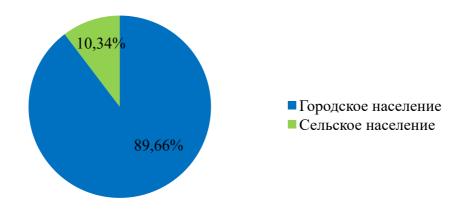


Рисунок 3.50 – Удельный вес городского и сельского населения среди заболевших ЦМВБ в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Тенденции в динамике заболеваемости ЦМВБ в этих группах имеют однонаправленный характер, при этом уровень заболеваемости жителей сельских поселений ниже, чем городского населения (рисунок 3.51).



Рисунок 3.51 — Динамика заболеваемости ЦМВБ детского и взрослого городского и сельского населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ детей в возрасте 0–17 лет, проживающих в городе, выше в 4,37 раза (p<0,0001), чем взрослых (4,59 против 1,05 0 / $_{0000}$); у жителей сельских поселений данные показатели различаются в 10,16 раз (дети в возрасте 0–17 лет – 1,93 0 / $_{0000}$, взрослые – 0,19 0 / $_{0000}$) (p<0,0001) (таблица 3.19).

Таблица 3.19 — Заболеваемость ЦМВБ детского и взрослого городского и сельского населения в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Население	Дети в возрасте 0–17 лет		т Взрослые	
	абс.	0/0000	абс.	0/0000
Городское	14001	4,587	13736	1,051

Продолжение таблицы 3.19

Население	Дети в возрасте 0–17 лет		Взрослые	
	абс.	0/0000	абс.	0/0000
Сельских поселений	2363	1,933	836	0,190

Из 2814 случаев заболевания врожденной ЦМВИ, зарегистрированных в Российской Федерации в 2009—2023 гг., только 470 случаев приходилось на жителей сельских поселений, что составило 16,70% (рисунок 3.52).

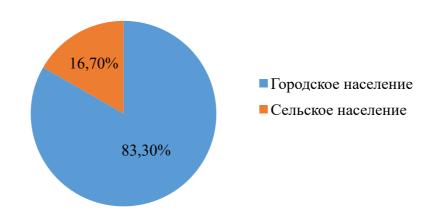


Рисунок 3.52 — Удельный вес городского и сельского населения среди заболевших врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

Тенденции заболеваемости врожденной ЦМВИ среди городского и сельского населения ассоциированы с наличием периодов подъема и спадов с пиковыми значениями $0.23^{0}/_{0000}$ (в 2010 г.) и $0.31^{0}/_{0000}$ (в 2015 г.) соответственно. Уровень заболеваемости врожденной ЦМВИ жителей сельских поселений ниже, чем городского населения (рисунок 3.53).

Среднемноголетний уровень заболеваемости врожденной ЦМВИ городских жителей $(0,1454^{0}/_{0000})$ выше в 1,74 раза, чем жителей сельских поселений $(0,0836^{0}/_{0000})$.

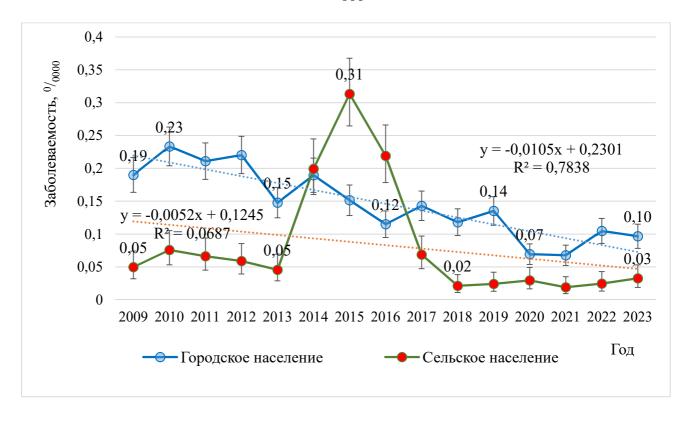


Рисунок 3.53 — Динамика заболеваемости врожденной ЦМВИ городского и сельского населения в Российской Федерации в 2009—2023 гг.

В 2009–2023 гг. в Российской Федерации зарегистрировано 66 случаев смерти от ЦМВБ, в том числе 44 случая среди детей в возрасте до 17 лет включительно, что составило 66,67%, и 58 случаев смерти от врожденной ЦМВИ (100% случаев среди детей в возрасте до 17 лет включительно) (таблица 3.20).

Таблица 3.20 — Летальные исходы при ЦМВБ и врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2009–2023 гг., абс.

Период		ЦМВБ	Врожденная ЦМВИ			
наблюдения, год	всего	из них детей до 17 лет	всего	из них детей до 17 лет		
		включительно		включительно		
2009	11	8	9	9		
2010	4	4	6	6		
2011	5	5	4	4		

Продолжение таблицы 3.20

Период		ЦМВБ	Врожденная ЦМВИ		
наблюдения, год	всего	из них детей до 17 лет	всего	из них детей до 17 лет	
		включительно		включительно	
2012	5	3	4	4	
2013	10	2	10	10	
2014	4	3	3	3	
2015	10	5	1	1	
2016	5	4	3	3	
2017	5	5	5	5	
2018	1	1	1	1	
2019	2	2	8	8	
2020	2	1	0	0	
2021	0	0	1	1	
2022	0	0	2	2	
2023	2	1	1	1	
Всего	66	44	58	58	

Смертность при ЦМВБ населения за изучаемый период имела тенденцию к снижению (рисунок 3.54) в среднем на 13,20% от среднемноголетнего показателя за год (p=0,004) и составляла 0,00304 0 /₀₀₀₀, 95% ДИ [0,000240–0,00378 0 /₀₀₀₀]. В том числе детей в возрасте от 0 до 17 лет включительно 0,0103 0 /₀₀₀₀, 95% ДИ [0,0077–0,0135 0 /₀₀₀₀], что выше в 8,17 раз, чем взрослых 0,00126 0 /₀₀₀₀, 95% ДИ [0,00084–0,0183 0 /₀₀₀₀]. При этом, коэффициент корреляции между смертностью детей и взрослых составил 0,218 (p=0,435).

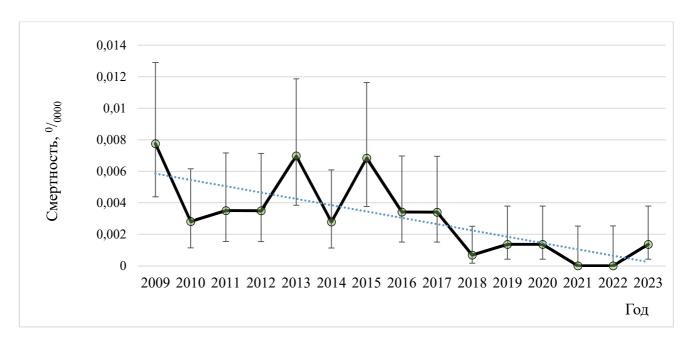


Рисунок 3.54 — Динамика смертности при ЦМВБ населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Территориальное распределение смертности населения при ЦМВБ в субъектах Российской Федерации в 2009–2023 гг. было неравномерным (таблица 3.21). Самые высокие показатели смертности при ЦМВБ отмечены в Чувашской Республике — Чувашии $(0,07^0/_{0000})$ Приволжского федерального округа, а среди детского населения — в Омской области $(0,29^0/_{0000})$ Сибирского федерального округа. Статистически значимая корреляционная связь между заболеваемостью ЦМВБ и смертностью при данном заболевании по субъектам Российской Федерации отсутствовала.

Смертность при врожденной ЦМВИ населения за 15-летний изучаемый период имела тенденцию к снижению в среднем на 13,41% от среднемноголетнего показателя за год (p=0,004) и составляла 0,002529 0 / $_{0000}$ (95% ДИ [0,001945–0,00324 0 / $_{0000}$]) (рисунок 3.55).

Таблица 3.21 Территориальное распределение регистрации случаев смерти от ЦМВБ взрослого и детского населения в субъектах Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Субъект		Число умерших, абс.	16c.	Средн	Среднемноголетняя смертность, $^{0/_{0000}}$	HOCTB, $^{0}/_{0000}$
	всего	хин ки	их	всего	из них	их
		дети до 17 лет	взрослые		дети до 17 лет	взрослые
		включительно			включительно	
Чувашская Республика – Чувашия	13	0	13	0,0703	0	0,0882
Омская область	17	17	0	0,0580	0,2855	0
Владимирская область	7	7	0	0,0336	0,1915	0
Орловская область	2	2	0	0,0176	0,0994	0
Республика Адыгея	1	1	0	0,0147	0,0700	0
Республика Хакасия	1	1	0	0,0125	0,0547	0
Мурманская область	1	0	1	0,0087	0,0000	0,0108
Калининградская область	1	1	0	0,0068	0,0364	0,0000
Брянская область	1	0	1	0,0054	0,0000	0,0067
Город Санкт-Петербург	4	2	2	0,0052	0,0163	0,0031
Пензенская область	1	1	0	0,0050	0,0292	0,0000
Нижегородская область	2	0	2	0,0041	0	0,0050
Ханты-Мансийский автономный	1	1	0	0,0041	0,0168	0
округ-Югра						

Продолжение таблицы 3.21

					1	1	1	1	ı	
ность, ⁰ / ₀₀₀₀	взрослые	0	0	0,0013	0	0	0	0	0,0011	
Среднемноголетняя смертность, $^{0}/_{0000}$	из них	дети до 17 лет включительно	0,0189	0,0184	0,0138	0,0171	0,0078	0,0084	0,0077	0
Среднет	всего		0,0038	0,0035	0,0033	0,0029	0,0018	0,0017	0,0015	6000,0
16c.	ИХ	взрослые	0	0	2	0	0	0	0	1
Число умерших, абс.	из них	дети до 17 лет включительно	2		4	1	1	1	1	0
	всего		2	1	9	1	1	1	1	1
Субъект			Челябинская область	Приморский край	город Москва	Воронежская область	Тюменская область	Республика Татарстан	Свердловская область	Московская область

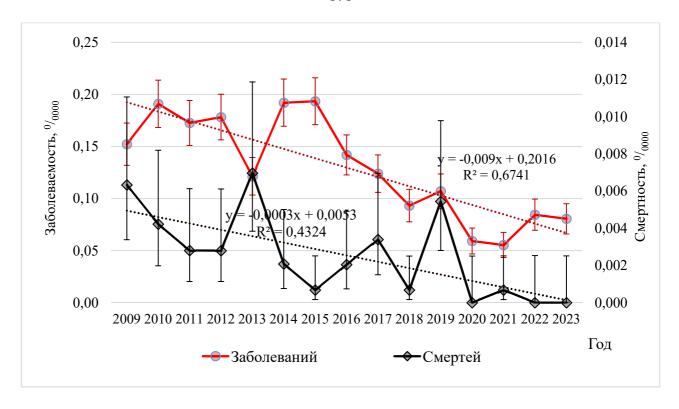


Рисунок 3.55 – Динамика смертности при врожденной ЦМВИ населения в Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Статистически значимая корреляционная связь между заболеваемостью врожденной ЦМВИ и смертностью при данном заболевании отсутствовала. Коэффициент корреляции отношения числа умерших и заболевших равен -0,444 (p=0,097).

Ретроспективный эпидемиологический анализ показал неравномерность территориального распределения смертности при врожденной ЦМВИ населения в субъектах Российской Федерации в 2009–2023 гг. (таблица 3.22).

Таблица 3.22 Территориальное распределение регистрации случаев смерти от врожденной ЦМВИ в субъектах Российской Федерации в 2009–2023 гг.

Субъект	Число умерших, абс.	Среднемноголетняя
		смертность, $^{0}/_{0000}$
Орловская область	5	0,043930

Продолжение таблицы 3.22

Субъект	Число умерших, абс.	Среднемноголетняя смертность, $^0/_{0000}$
Пензенская область	7	0,034951
Омская область	8	0,027311
Владимирская область	5	0,024004
Приморский край	5	0,017354
Нижегородская область	4	0,008226
Калининградская область	1	0,006808
Город Москва	12	0,006641
Город Санкт-Петербург	5	0,006480
Томская область	1	0,006262
Вологодская область	1	0,005651
Челябинская область	2	0,003837
Воронежская область	1	0,002887
Ростовская область	1	0,001581

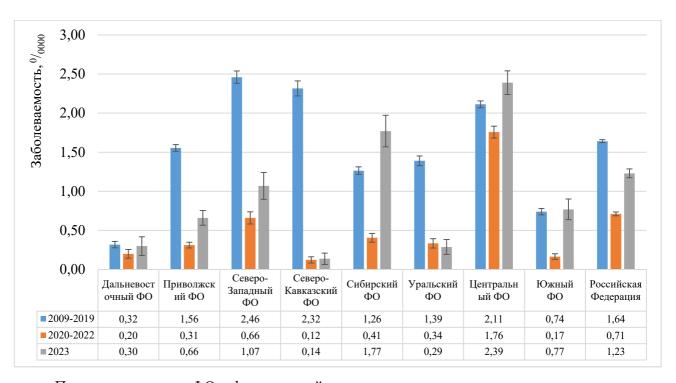
Самые высокие показатели смертности при врожденной ЦМВИ отмечены в областях: Орловской $(0,04^0/_{0000})$ Центрального федерального округа, Пензенской $(0,04^0/_{0000})$ Приволжского федерального округа и Омской $(0,03^0/_{0000})$ Сибирского федерального округа.

В 2023 г. заболеваемость ЦМВБ в Российской Федерации выросла в 1,48 раза по сравнению с 2022 г.: $1,23^{0}/_{0000}$ соответственно (p<0,0001). Абсолютный прирост составил $0,40^{0}/_{0000}$, темп прироста 48,19%. В 2023 г. зарегистрировано 1799 случаев заболеваний ЦМВБ ($1,23^{0}/_{0000}$), из которых 176 – среди жителей сельских поселений ($0,48^{0}/_{0000}$) в 69 (81,18%) из 85 субъектов Российской Федерации (рисунок 3.56), случаев смерти – 2.

Прослеживалась неравномерность уровней заболеваемости ЦМВБ по федеральным округам при анализе показателей во временные периоды: 2009–2019 гг. (период до пандемии COVID-19), 2020–2022 гг. (период пандемии COVID-19) и 2023 г. (период после пандемии COVID-19) (рисунок 3.57).



Рисунок 3.56 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости ЦМВБ в 2023 гг. ($^{0}/_{0000}$)



 Π р и м е ч а н и е – Φ О – федеральный округ

Рисунок 3.57 — Динамика заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009— 2019 гг., 2020—2022 гг. и 2023 г. в целом и по федеральным округам

Из рисунка 3.57 следует, что во всех 8 федеральных округах уровень заболеваемости ЦМВБ в 2020–2021 гг. был ниже, чем в 2009–2019 гг. и 2023 г. И только в трех случаях (Северо-Кавказский, Уральский, Дальневосточный федеральные округа) уровень заболеваемости ЦМВБ в периоды пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.) и после (2023 г.) достоверно не различался. В двух регионах (Центральный, Сибирский федеральные округа) уровень заболеваемости ЦМВБ в 2023 г. был достоверно выше, чем в 2009–2019 гг. на 11,72% и 28,81% соответственно.

Максимальные показатели заболеваемости ЦМВБ населения в Российской Федерации в 2023 г. зарегистрированы в Центральном $(2,39^0/_{0000})$ и Сибирском $(1,77^0/_{0000})$ федеральных округах, минимальный — в Северо-Кавказском федеральном округе $(0,14^0/_{0000})$ (рисунок 3.57).

Среди заболевших в 2023 г. зарегистрировано 655 детей в возрасте до 17 лет включительно $(2,17^{0}/_{0000})$: в возрасте до 1 года — 249 $(18,52^{0}/_{0000})$; 1—2 года — 141 $(4,94^{0}/_{0000})$, 3—6 лет — 111 $(1,61^{0}/_{0000})$. Из всех зарегистрированных случаев ЦМВБ на долю городского населения пришлось 90,22%, что составило 1623 случая (2022 г. — 95,79%).

За указанный период в 11 субъектах Российской Федерации показатели заболеваемости ЦМВБ (0 / $_{0000}$) превышали средний по стране уровень заболеваемости в 1,11–6,73 раз (рисунок 3.58). Среди которых: Алтайский (6,81), Краснодарский (1,60) края, Ямало-Ненецкий (1,76) автономный округ, Иркутская (3,70), Кировская (1,40), Костромская (2,44), Липецкая (1,59), Мурманская (1,36), Псковская (8,27), Пензенская (1,75) области, город Москва (6,72). В 2023 г. случаи заболевания ЦМВБ не выявлены в 16 субъектах Российской Федерации: Ненецком, Чукотском автономных округах, Еврейской автономной области, Республиках Алтай, Ингушетия, Крым, Марий Эл и Карачаево-Черкесской, Чеченской, Чувашской (Чувашии) Республиках, Тверской, Магаданской, Сахалинской, Ульяновской, Ярославской областях, городе Севастополе.

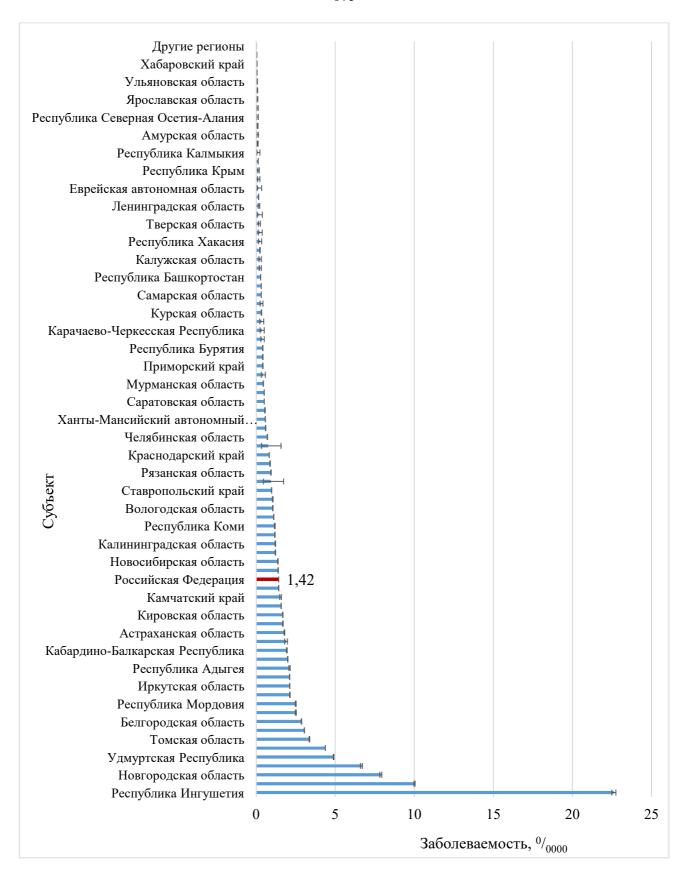


Рисунок 3.58 — Заболеваемость ЦМВБ по субъектам Российской Федерации в 2023 г.

Уровень заболеваемости врожденной ЦМВИ в нашей стране в 2023 г. по сравнению с 2022 г. сохранился на прежнем уровне и составил $0.08^{0}/_{0000}$. В 2023 г. зарегистрировано 118 случаев заболеваний врожденной ЦМВИ $(0.08^{0}/_{0000})$ в 29 (34.12%) из 85 субъектов Российской Федерации (рисунок 3.59), случаев смерти – $1~(2022~\Gamma.-2)$.

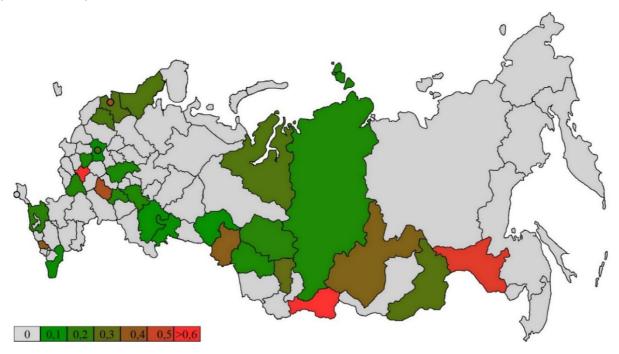


Рисунок 3.59 — Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости врожденной ЦМВИ в Российской Федерации в 2023 г. ($^{0}/_{0000}$)

Минимальное число случаев заболеваемости врожденной ЦМВИ зарегистрировали в Уральском федеральном округе $(0.02^{0}/_{0000})$, максимальное – в Северо-Западном $(0.19^{0}/_{0000})$ и Сибирском $(0.16^{0}/_{0000})$ федеральных округах.

Среди 118 $(0,39^{0}/_{0000})$ детей в возрасте до 17 лет включительно, заболевших в 2023 г., зарегистрировано: в возрасте до 1 года — 116 $(8,63^{0}/_{0000})$, что составило 98,31%; 1—2 года — 2 $(0,07^{0}/_{0000})$; 3—6, 7—14, 15—17 лет — не зарегистрировано. Среди всех зарегистрированных случаев врожденной ЦМВИ на долю городского населения пришлось 89,83%, что составило 106 случаев (2022 г. — 92,68%).

В 2023 г. в 19 (22,35%) субъектах Российской Федерации показатели заболеваемости врожденной ЦМВИ превышали средний по стране уровень

заболеваемости в 1,05–7,75 раз (рисунок 3.60). Среди которых: Забайкальский (0,20), Краснодарский (0,10) края, Ямало-Ненецкий автономный округ (0,20), Республики Карелия (0,19), Тыва (0,59) и Кабардино-Балкарская Республика (033), Амурская (0,53), Воронежская (0,09), Иркутская (0,30), Кемеровская (Кузбасс) (0,23), Ленинградская (0,20), Липецкая (0,62), Новгородская (0,17), Омская (0,33), Пензенская (0,40), Томская (0,10), Ульяновская (0,084) области, города Москва (0,17) и Санкт-Петербург (0,38). За указанный период случаи заболевания врожденной ЦМВИ не выявлены в 56 (65,88%) субъектах Российской Федерации.

Таким образом, многолетняя динамика заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила волнообразный характер с периодами подъемов и спадов и характеризовалась тенденцией к заболеваемости. Темп снижению уровня снижения заболеваемости 0.06705 ± 0.02043^{0} /₀₀₀₀ или $4.71\pm1.44\%$ от средней многолетней заболеваемости ЦМВБ (p=0,006). При анализе динамики заболеваемости врожденной ЦМВИ выявлено наличие прямолинейной тенденции к снижению уровня в среднем на 6,91% (R²=0,6741, p<0,001). Среднемноголетний показатель заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период изучения составлял $1,42^{0}/_{0000}$, врожденной ЦМВИ – $0,13^{0}/_{0000}$. Отмечена существенная неравномерность территориального распределения как ЦМВБ, так и врожденной ЦМВИ по субъектам страны (p<0,001). Лидирующая позиция по уровню заболеваемости ЦМВБ среди субъектов Центрального федерального округа за весь период наблюдения принадлежала городу Москве $(4.38^{\circ}/_{0000})$ превышением среднероссийского показателя в 3,09 раз. Схожая ситуация прослеживалась и при анализе уровня заболеваемости врожденной ЦМВИ. Среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009–2023 гг. составлял среди взрослых $0.83^{0}/_{0000}$, детей в возрасте 0-17 лет включительно $-3.83^{0}/_{0000}$. Наиболее высокий среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ отмечен среди детей в возрасте до года $(23.86^{\circ})_{0000}$, который превышал аналогичные параметры других возрастных групп (в 2,70–28,07 раз).

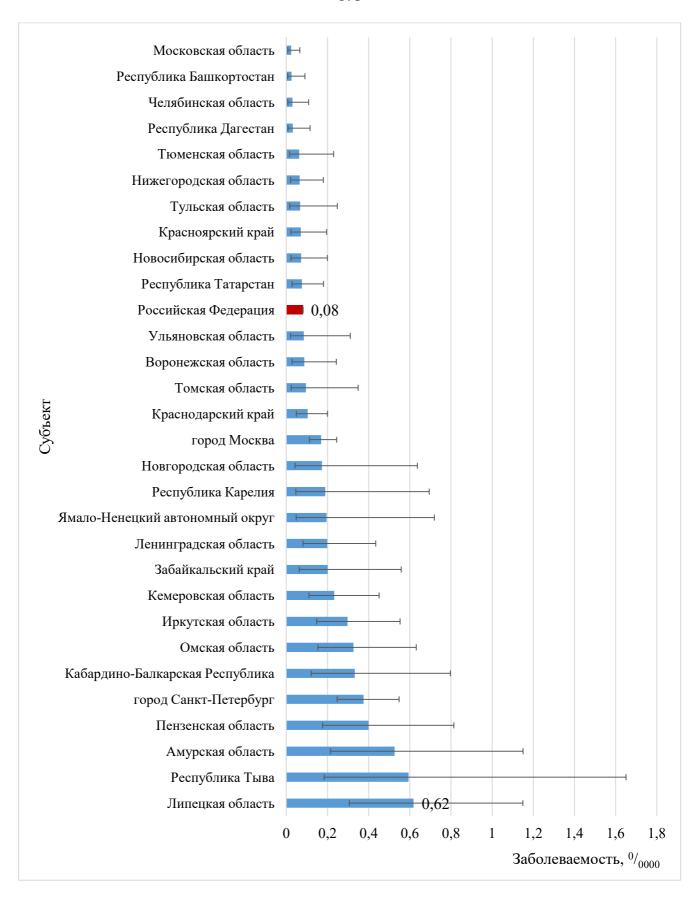


Рисунок 3.60 — Заболеваемость врожденной ЦМВИ по субъектам Российской Федерации в 2023 г.

Сравнительный анализ динамики возрастной структуры заболеваемости ЦМВБ показал увеличение в 1,38 раза доли взрослого населения с 46,13% (2009 г.) до 63,59% (2023 г.) (p<0,0001) и преобладание среди заболевших городских жителей. Установлено, что среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ детей в возрасте до 17 лет включительно выше, чем взрослых в 4,37 и 10,16 раз (p < 0.0001)среди городских сельских жителей соответственно. И Среднемноголетний уровень заболеваемости врожденной ЦМВИ также выше среди городских жителей, чем среди жителей сельских поселений (в 17,39 раз). Смертность при ЦМВБ и врожденной ЦМВИ за анализируемый временной период (2009–2023 гг.) имела тенденцию к снижению в среднем на 13,20% и 13,41% от среднемноголетнего показателя соответственно.

Установленная существенная неравномерность территориального распределения заболеваемости ЦМВБ и врожденной ЦМВИ населения в разрезе субъектов Российской Федерации, на наш взгляд, обусловлена недочетами в учете и регистрации данных нозологических форм, использованием различных подходов при проведении лабораторного подтверждения и интерпретации полученных результатов. Это обуславливает необходимость широкого внедрения единых научно-обоснованных критериев стандартного определения случая заболевания, повышения качества лабораторной верификации путем применения современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности и чувствительности, в том числе молекулярно-биологических методов.

Последующие главы диссертационного исследования будут посвящены разработке и научно-методическому обоснованию применения комплекса современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов в целях совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА, ВАЛИДАЦИЯ И АПРОБАЦИЯ МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ Торсн-группы на основе полимеразной цепной реакции

На момент начала исследования доступных методик и зарегистрированных на территории страны отечественных наборов реагентов для использования *in vitro*, предназначенных для качественного определения ДНК T.gondii, PHK R.rubellae, определения качественного количественного ДНК R.humanbeta6a R.humanbeta6b в различном биологическом материале методом ПЦР, ОТ-ПЦР с детекцией амплификации гибридизационно-флуоресцентной продуктов анализом получаемых результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ) не было представлено, что и явилось обоснованием для проведения разработок.

4.1. Разработка методики качественного определения ДНК *Toxoplasma gondii* на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

В ходе научно-исследовательских работ по созданию методики качественного определения ДНК *Т.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ диагностической мишенью выбран повторяющийся ген 529REP (размер 529 п.о., 200–300 повторений в геноме) данного паразитического простейшего, функция которого неизвестна [243]. Размер амплифицируемого фрагмента составил 81 п.о. (GC-состав 58%, температура плавления – 81,02 °C).

Анализ молекулярной структуры выбранных нуклеотидных последовательностей специфических олигонуклеотидных праймеров и зонда с флуоресцентной меткой типа «ТаqMan», позволяющих выявлять ДНК *T.gondii*, на

предмет наличия гомологии с частично и полностью секвенированными геномами различных организмов совпадений не выявил (рисунок 4.1).

Sequences producing significant alignments	Downloa	nd Y	Se	elect c	olumns	s Y Sh	now 1	00 🕶
select all 76 sequences selected	GenB	<u>ank</u>	<u>Graph</u>	ics [<u> Distance</u>	tree of re	esults	MSA Viewer
Description	Scientific Name	Max Score		Query	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
▼ Toxoplasma gondii TgMc132a DNA for repetitive sequence	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	421	LC547467.1
▼ Toxoplasma gondii TgMc128a DNA for repetitive sequence	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	420	LC547463.1
✓ Toxoplasma gondii isolate S48 529REP repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	373	MH560583.1
▼ Toxoplasma gondii isolate S47 529REP repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	348	MH560582.1
▼ Toxoplasma gondii isolate S21 529REP repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	352	MH560581.1
▼ Toxoplasma gondii isolate S12 529REP repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	348	MH560580.1
✓ Toxoplasma gondii isolate TgShlr32 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	473	MH884741.1
▼ Toxoplasma gondii isolate TgShlr30 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	437	MH884740.1
▼ Toxoplasma gondii isolate TgShlr28 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	454	MH884739.1
✓ Toxoplasma gondii isolate TgShlr26 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	464	MH884737.1
▼ Toxoplasma gondii isolate TgShlr25 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	480	MH884736.1
▼ Toxoplasma gondii isolate TgShlr24 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	463	MH884735.1
▼ Toxoplasma gondii isolate TgAblr10 repeat region	Toxoplasma gondii	150	150	100%	2e-32	100.00%	474	MH680820.1

Рисунок 4.1 — Результаты оценки комплементарности выбранной нуклеотидной последовательности искомой мишени возбудителя токсоплазмоза известным нуклеотидным последовательностям различных организмов при использовании международной базы данных NCBI [224] (фрагмент)

В ходе проведения опытно-конструкторских работ экспериментально подобран состав реакционной смеси, включающий специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды с флуоресцентной меткой типа «ТаqМаn», дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, буфер, фермент ТаqF-полимеразу, и условия выполнения ПЦР-РВ на амплификаторах различного типа, представленные в таблице 4.1.

Проведенные эксперименты показали, что программы амплификации считаются равнозначными и тестирование на одной программе приравнивается к тестированию на двух программах. С использованием программы амплификации варианта 2 возможно одновременное сочетание разработанных методик, включая методики с обратной транскрипцией и амплификацией, в одном приборе.

Таблица 4.1 — Программа амплификации, используемая при выполнении методики качественного определения ДНК T.gondii в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

4.1.1 – Вариант 1

Цикл	При	бор роторного типа	•	Прибор планшетного типа**		
	темпера-	продолжитель-	коли-	темпера-	продолжитель-	коли-
	тура, °С	ность	чество	тура, °С	ность	чество
			циклов			циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1
	95	5 c		95	5 c	
2	60	20 с	5	60	20 с	5
	72	15 c		72	15 c	
	95	5 c		95	5 c	
		20 с			30 c	
	детекция			детекция		
3	60	флуоресцентного	40	60	флуоресцентного	40
3	00	сигнала для	40	00	сигнала для	40
		флуорофоров			флуорофоров	
	FAM, JOE/HEX			FAM, JOE/HEX		
	72	15 c		72	15 c	

Примечание —*Прибор для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q, Qiagen GmbH, Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года); ** амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278 ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация (РУ № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года)

4.1.2 – Вариант 2

Цикл	Прибор роторного типа*			Прибор планшетного типа**		
	темпера-	продолжитель-	коли-	темпера-	продолжитель-	коли-
	тура, °С	ность	чество	тура, °С	ность	чество
			циклов			циклов
1	50	15 мин	1	50	15 мин	1
2	95	15 мин	1	95	15 мин	1

Продолжение таблицы 4.1.2 – Вариант 2

Цикл	Приб	Приборы роторного типа*		Приборы планшетного типа**		
	темпера-	продолжитель-	коли-	темпера-	продолжитель-	коли-
	тура, °С	ность	чество	тура, °С	ность	чество
			циклов			циклов
	95	5 c		95	5 c	
3	60	20 с	5	60	20 с	5
	72	15 c		72	15 c	
	95	5 c		95	5 c	
		20 с			30 с	
		детекция			детекция	
4	60	флуоресцентного	40	60	флуоресцентного	40
	00	сигнала для	40	00	сигнала для	40
		флуорофоров			флуорофоров FAM,	
		FAM, JOE/HEX			JOE/HEX	
	72	15 c		72	15 c	

Примечание -*Прибор для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q, Qiagen GmbH, Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года); **амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278 ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация (РУ № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года)

Для контроля качества выполнения ПЦР-исследования использовали экзогенный неконкурентный ВКО, который добавляли в исследуемые образцы биологического материала (образцы цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов венозной, пуповинной крови; спинномозговой жидкости; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, аутопсийного, операционного) материала) на этапе экстракции. Экзогенный неконкурентный ВКО представлял собой искусственно сконструированный фрагмент ДНК, клонированный в ДНК фаг
λ. Таким образом, на этапе амплификации предусмотривалось проведение амплификации одновременно двух ДНК-мишеней с регистрацией получаемых результатов по двум каналам флуоресцентной детекции. По каналу FAM — ДНК

экзогенного неконкурентного ВКО, а по каналу JOE/HEX – искомой мишени – ДНК *T.gondii*.

Для оценки качества получаемых результатов использовался положительный контроль этапа амплификации – искусственно сконструированные фрагменты ДНК повторяющегося гена 529REP *T.gondii* и экзогенного неконкурентного ВКО, клонированные в ДНК фаги- λ ; отрицательные контрольные образцы этапов экстракции и амплификации. Отрицательные контрольные образцы – стерильный раствор, не содержащий ДНК и РНК, позволяющий контролировать возможную кросс-контаминацию другими исследуемыми образцами или ампликонами в ходе ПЦР-исследования.

Проверка аналитической специфичности разработанной методики, предназначенной для качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом основе ПЦР-РВ, материале на показала отсутствие ложноположительных результатов при тестировании РНК, ДНК 30 различных микроорганизмов, а также геномной ДНК человека и 11 видов животных в 100% случаев (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Аналитическая специфичность методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Alces	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Bos taurus taurus	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Canis lupus familiaris	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Capra hircus	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Cytomegalovirus humanbeta5	штамм Merlin	не обнаружено
ДНК Equus	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Erythroparvovirus primate1	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Felis silvestris catus	клинический изолят	не обнаружено
PHK Hepacivirus hominis	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Hepatitis B virus	клинический изолят	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.2

Аналит	Источник	Результат	
	происхождения		
ДНК Homo sapiens	Sigma-Aldrich, CIIIA	не обнаружено	
ДНК Human mastadenovirus B	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human mastadenovirus C	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human mastadenovirus E	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 11 Alphapapillomavirus 10	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 16 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 18 Alphapapillomavirus 7	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 33 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 35 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Human papillomavirus тип 6 Alphapapillomavirus 10	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Listeria monocitogenes	штамм АТСС® 7644ТМ	не обнаружено	
ДНК Lymphocryptovirus humangamma4	штамм В95-8	не обнаружено	
PHK Morbillivirus hominis	штамм Нов 96	не обнаружено	
ДНК Muridae	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Mycobacterium tuberculosis	штамм Erdmann	не обнаружено	
PHK Orthorubulavirus parotitidis	штамм Драгун	не обнаружено	
PHK Orthorubulavirus parotitidis	штамм ПетроНов	не обнаружено	
ДНК Oryctolagus cuniculus	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Ovis aries	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Proteus vulgaris	штамм ОХ	не обнаружено	
ДНК Rattus	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Roseolovirus humanbeta6a	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Roseolovirus humanbeta6b	клинический изолят	не обнаружено	
ДНК Roseolovirus humanbeta7	клинический изолят	не обнаружено	

Продолжение таблицы 4.2

Аналит	Источник происхождения	Результат
PHK Rubivirus rubellae	штамм Wistar RA 27/3М	не обнаружено
ДНК Salmonella typhimurium	штамм TR-1	не обнаружено
ДНК Shigella flexneri	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Simplexvirus humanalpha1	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Simplexvirus humanalpha2	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Staphylococcus aureus	штамм АТСС® 6538РТМ	не обнаружено
ДНК Sus scrofa domestica	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Toxoplasma gondii	штамм RH	обнаружено
ДНК Varicellovirus humanalpha3	клинический изолят	не обнаружено

Для определения аналитической чувствительности (предела обнаружения) методики, предназначенной для качественного определения ДНК *Т.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ, использовали серии последовательных 10- и 2-кратных разведений живого коллекционного штамма *Т.gondii* RH с концентрацией 5х10⁷ тахизоитов/мл. Экстракцию ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Оценка аналитической чувствительности показала, что разработанная методика позволяет выявлять 4 тахизоита/мл исследуемого образца биологического материала (таблица 4.3).

Повторяемость и воспроизводимость исследования установили путем тестирования положительных (концентрация ДНК *T.gondii* 1x10³ копий/мл) и отрицательных модельных образцов. Условия повторяемости определяли при тестировании в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени. Условия воспроизводимости — в двух независимых лабораториях, разными операторами, в разные дни, на различных приборах, с использованием разных серий комплектов реагентов. Результаты оценки повторяемости и

воспроизводимости исследования представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.3 — Аналитическая чувствительность методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Вид исследуемого	Транспортная среда	Объем образца	Предел
биологического материала		для экстракции,	обнаружения,
		МКЛ	тахизоитов/мл
Цельная (венозная,			
пуповинная) кровь	_		
Лейкоциты (венозной,			
пуповинной) крови	_		
Спинномозговая жидкость	_	100	4
Амниотическая жидкость	_		
Тканевой (биопсийный,	«Транспортная среда		
аутопсийный,	с муколитиком		
операционный) материал	(TCM)»*		

Примечание – *Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» по ТУ 9398-098-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/05514 от 13 марта 2019 года)

Таблица 4.4 — Повторяемость и воспроизводимость результатов исследования, проводимого с использованием методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Тип образца	Повторяемость		Воспроиз	водимость
	количество, совпадение		количество,	совпадение
	абс.	результатов, %	абс.	результатов, %
Положительный	20	100	50	100
Отрицательный	20	100	50	100

Для оценки влияния потенциальной интерференции на результаты исследования, проводимого с использованием методики качественного определения ДНК *Т.gondii* на основе ПЦР-РВ, протестированы модельные образцы заявленных видов биологического материала без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ в концентрации, указанной в таблице 4.5.

Таблица 4.5 — Оценка влияния потенциальной интерференции на результаты исследования, проводимого с использованием методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Вид биологического	Тип	Наименование	Концентрация	Наличие
материала	потенциального	потенциального		интерференции
	интерферента	интерферента		
		билирубин	210 мкмоль/л	не обнаружено
	эндогенное	холестерин	77,6 ммоль/л	не обнаружено
Цельная	вещество	триглицериды	37,6 ммоль/л	не обнаружено
(венозная,		гемоглобин	250 г/л	не обнаружено
пуповинная) кровь	экзогенное	литий гепарин	от 12 до 30 МЕ/мл	обнаружено
	вещество	калий ЭДТА	2,0 мг/мл	не обнаружено
		билирубин	210 мкмоль/л	не обнаружено
n ~	эндогенное	холестерин	77,6 ммоль/л	не обнаружено
Лейкоциты (венозной,	вещество	триглицериды	37,6 ммоль/л	не обнаружено
пуповинной)		гемоглобин	250 г/л	не обнаружено
крови	экзогенное	литий гепарин	от 12 до	обнаружено
77	вещество	литин тепарип	30 МЕ/мл	оопаружено
	вещество	калий ЭДТА	2,0 мг/мл	не обнаружено
Спинномозговая	эндогенное	глюкоза	10 ммоль/л	не обнаружено
жидкость	вещество	лейкоциты	500 кл./мм ³	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.5

Вид биологического	Тип	Наименование	Концентрация	Наличие
материала	потенциального	потенциального		интерференции
	интерферента	интерферента		
Амниотическая	эндогенное	цельная кровь	5%	не обнаружено
жидкость	вещество	цельная кровь	370	пе обпаружено
Тканевой				
(биопсийный,				
аутопсийный,	эндогенное	гемоглобин	250 г/л	не обнаружено
операционный)	вещество			
материал				

В модельные образцы добавляли ДНК *Т.gondii* до концентрации равной пределу обнаружения. Экстракцию ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года).

Для определения диагностических характеристик разработанной методики качественного определения ДНК *T.gondii* на основе ПЦР-РВ использовано 2750 образцов заявленного биологического материала, полученных от новорожденных с подтвержденным диагнозом РЗ7.1 Врожденный токсоплазмоз, детей и взрослых в возрасте от 1 года до 60 лет (Me=30 лет) с подтвержденным диагнозом B58B58.0 Токсоплазмоз, Токсоплазмозная B58.1 включая окулопатия, Токсоплазмозный гепатит (К77.0*), В58.2 Токсоплазмозный менингоэнцефалит (G05.2*), В58.3 Легочный токсоплазмоз (J17.3*), условно-здоровых доноров крови и пациентов с соматической патологией при отсутствии клинических проявлений острого инфекционного заболевания И отрицательными результатами лабораторного обследования на маркеры токсоплазмоза (специфические AT-IgA, AT-IgM, AT-IgG) методом И Φ А, в возрасте 18–45 лет (Me=25 лет), а также модельные образцы заявленного биологического материала с добавлением живого коллекционного штамма T.gondii RH до концентрации от 20 до $5x10^3$

тахизоитов/мл. Сбор образцов биологического материала проведен на базе ГБУЗМ Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова ДЗМ, ГБУЗ «ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ», ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ, ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ» и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

В качестве референтного метода использовали набор реагентов для выявления ДНК Токсоплазмы гондии (*Toxoplasma gondii*) методом полимеразной цепной реакции (ТОКС-ГЕН) по ТУ 9398-019-46482062-2008 (РУ № ФСР 2008/03944 от 25 ноября 2016 года) производства ООО «НПО ДНК-Технология» (Российская Федерация) с последующим подтверждением специфичности результата методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру). Результаты тестирования разработанной методики качественного определения ДНК *Т.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении с референтным методом представлены в таблице 4.6.

Таблица 4.6 – Результаты тестирования методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении референтным методом

Вид	Результаты тестирования				
биологического	разработанная методика		референтный метод		
материала			положительные	отрицательные	
Цельная (венозная,	всего	положительные	250	0	
пуповинная) кровь	исследовано 550 образцов		отрицательные	0	300
Лейкоциты (венозной,	всего исследовано	положительные	250	0	
пуповинной) крови	550 образцов	отрицательные	0	300	

Продолжение таблицы 4.6

Вид		Результаты	тестирования	
биологического	разработан	ная методика	референт	ный метод
материала			положительные	отрицательные
Спинномозговая	всего	положительные	250	0
жидкость	исследовано 550 образцов	отрицательные	0	300
Амниотическая	всего	положительные	250	0
жидкость	исследовано 550 образцов	отрицательные	0	300
Тканевой (биопсийный,	всего	положительные	250	0
операционный, аутопсийный) материал	исследовано 550 образцов	отрицательные	0	300

В результате проведенных исследований определены следующие параметры для разработанной методики качественного определения ДНК *T.gondii* на основе ПЦР-РВ при тестировании образцов цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов пуповинной венозной, крови; спинномозговой амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, операционного, аутопсийного) сравнении референтным методом: материала диагностическая чувствительность -100% (95% ДИ [98,54-100%]), диагностическая специфичность -100% (95% ДИ [98,78-100%]) (таблица 4.7).

Апробация разработанной методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ проведена на панели контрольных образцов «QCMD 2012 Toxoplasma gondii DNA EQA», предоставленной некоммерческой независимой международной организацией по внешней оценке качества в области клинической молекулярной диагностики инфекционных заболеваний «Quality Control for Molecular Diagnostics» (Шотландия, Великобритания) [244] в 2012 г.

Таблица 4.7 — Диагностические характеристики методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении с референтным методом

Вид исследуемого	Диагностическая	Диагностическая
биологического материала	чувствительность (ДИ 95%), %	специфичность (ДИ 95%), %
Цельная (венозная,	100 (98,54–100)	100 (98,78–100)
пуповинная) кровь	100 (98,34–100)	100 (98,78–100)
Лейкоциты (венозной,	100 (98,54–100)	100 (98,78–100)
пуповинной) крови	100 (78,54-100)	100 (78,78–100)
Спинномозговая жидкость	100 (98,54–100)	100 (98,78–100)
Амниотическая жидкость	100 (98,54–100)	100 (98,78–100)
Тканевой (биопсийный,		
операционный,	100 (98,54–100)	100 (98,78–100)
аутопсийный) материал		

Контрольная панель состояла из 10 зашифрованных образцов биологического материала (8 положительных и 2 отрицательных) и позволяла оценить качество проводимых ПЦР-исследований в рамках выполнения пренатальной диагностики токсоплазмоза, благодаря включению трех образцов амниотической жидкости с низкой концентрацией патогена (таблица 4.8).

Таблица 4.8 – Характеристика панели образцов «QCMD 2012 Toxoplasma gondii DNA EQA»

Код	Вид биологического	Заданные па	раметры
образца	материала	вид микроорганизма	концентрация
			(M±SD),
			тахизоитов/мл
TG12-01	амниотическая жидкость	T.gondii (генотип II)	7±4
TG12-02	амниотическая жидкость	T.gondii (генотип II)	7±4
TG12-03	амниотическая жидкость	T.gondii (генотип II)	7±4

Продолжение таблицы 4.8

Код	Вид биологического	Заданные па	раметры
образца	материала	вид микроорганизма	концентрация
			(M±SD),
			тахизоитов/мл
TG12-04	амниотическая жидкость	T.gondii (генотип II)	20±10
TG12-05	плазма крови	T.gondii (генотип II)	23±10
TG12-06	плазма крови	отсутствует	_
TG12-07	плазма крови	T.gondii (генотип II)	80±30
TG12-08	плазма крови	отсутствует	_
TG12-09	плазма крови	T.gondii (генотип II)	23±10
TG12-10	плазма крови	T.gondii (генотип II)	11±6

С помощью разработанной методики качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ панель контрольных образцов «QCMD 2012 Toxoplasma gondii DNA EQA» была расшифрована на 100%.

Согласно заключительному отчету, в 2012 году в расшифровке данной панели контрольных образцов принимало участие 97 организаций из 31 страны мира. При этом, только 84,7% участников при использовании метода ПЦР с анализом результатов в качественном формате расшифровали 6/6 образцов панели (TG12-04, TG12-05, TG12-07, TG12-09 со средней концентрацией *T.gondii* ≥10 тахизоитов/мл и TG12-06, TG12-08, не содержащие *T.gondii*), 80,6% – идентифицировали образцы амниотической жидкости (TG12-01, TG12-02, TG12-03) с низкой концентрацией *T.gondii* как положительные. Ложноположительные результаты при расшифровке двух истинно отрицательных образцов (TG12-06, ТG12-08) контрольной панели получены в 1,5% случаев. Следует подчеркнуть, что с помощью разработанной методики качественного определения ДНК T.gondii в на ПЦР-РВ, различном биологическом материале основе три образца амниотической жидкости (концентрация патогена 7±4 тахизоита/мл) были определены как положительные (100%), а истинно отрицательные образцы плазмы крови как негативные (100%). В целом, при тестировании панели контрольных образцов QCMD 2012 Toxoplasma gondii DNA EQA (Quality Control for Molecular, Шотландия, Великобритания) разработанная нами методика позволила провести идентификацию ДНК *T.gondii* и показала 100% совпадение результатов с заявленными, что подтвердило ее высокие аналитические и диагностические характеристики.

Таким образом, в результате проведенных научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ предложена методика на основе ПЦР-РВ, предназначенная для качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале (образцы цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов венозной, пуповинной крови; спинномозговой амниотической жидкости; тканевого (биопсийный, аутопсийный, операционный) материала). Материалом для проведения ПЦР-РВ являются пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого биологического материала. Определены аналитические характеристики разработанной методики. Аналитическая специфичность составила 100%, аналитическая чувствительность – 4 тахизоита/мл материала, повторяемость исследуемого образца биологического воспроизводимость исследования – 100%. Проведено изучение влияния интерферирующих потенциально веществ на результаты исследования. Диагностические чувствительность и специфичность методики качественного определения ДНК T.gondii в заявленных видах биологического материала на основе ПЦР-РВ по сравнению с референтным методом составила 100% (95% ДИ [98,54–100%]) и 100% (95% ДИ [98,78–100%]) соответственно. Высокие диагностические характеристики подтверждены при апробации разработанной методики на панели контрольных образцов QCMD 2012 Toxoplasma gondii DNA EQA (Quality Control for Molecular Diagnostics, Шотландия, Великобритания). Разработанная методика качественного определения ДНК *T.gondii* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ может являться базисом для создания набора реагентов для лабораторной диагностики токсоплазмоза у пациентов различного возраста, в том числе при проведении пренатальной диагностики и установлении окончательного диагноза Р37.1 Врожденный токсоплазмоз.

4.2 Разработка методики качественного определения РНК Rubivirus rubellae на основе полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

В ходе научно-исследовательских работ по созданию методики качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ диагностической мишенью выбран ген, кодирующий неструктурный белок вируса краснухи р150 размером 1300 нуклеотидов (рисунок 4.2). Размер амплифицируемого фрагмента составил 121 п.о. (GC-состав 55%, температура плавления – 83,02 °C).

Белок p150 обладает протеазной активностью, необходимой для расщепления предшественника двух белков p90 и p150 – p200. p150 и p90 синтезируют субгеномную мРНК, которая впоследствии необходима для синтеза вирусного капсидного белка (С) и поверхностных гликопротеинов (Е1 и Е2).

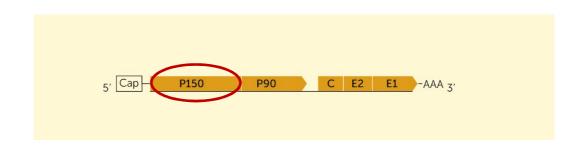


Рисунок 4.2 — Схематическое расположение участка РНК *R.rubellae*, выбранного в качестве диагностической мишени при разработке методики

Анализ молекулярной структуры выбранных нуклеотидных последовательностей специфических олигонуклеотидных праймеров и зонда с флуоресцентной меткой типа «ТаqMan», позволяющих выявлять РНК вируса

краснухи, на предмет наличия гомологии с частично и полностью секвенированными геномами различных организмов, не выявил совпадений (рисунок 4.3).

eq	uences producing significant alignments	Downloa	d Y	Sele	ct colu	imns `	Show	/ 10	0 🗸
2	select all 10 sequences selected	<u>GenBa</u>	ank <u>G</u>	raphics	Dista	ance tre	e of resul	<u>lts</u>	MSA View
	Description	Scientific Name	Ma Sco		Query	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
/	Rubella virus strain C-77wt, partial genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9713	KT000088
1	Rubella virus strain RVi/Boston.MA.USA/13.07/1G_complete_genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9760	JN635289.
/	Rubella virus strain RVI/NJ.USA/61/1a_complete_genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9762	JN635281
1	Rubella virus strain F-therin, complete genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9762	M15240.2
1	Rubella virus genomic RNA, complete genome, strain: Matsuba vaccine	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9761	AB588193
~	Rubella virus genomic RNA, complete genome, strain: TCRB19 vaccine	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9761	AB588188
/	Rubella virus genomic RNA, complete genome, strain: Takahashi vaccine (KRT)	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9762	AB222608
/	Rubella virus strain GUZ GER92, complete genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9760	DQ388280
1	Rubella virus complete genome	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	9762	AF188704
/	Rubella virus NS-gene region (clone HPV77.DE5.A/B)	Rubella virus	20	7 207	92%	2e-49	100.00%	523	X94749.1

Рисунок 4.3 — Результаты оценки комплементарности выбранной нуклеотидной последовательности искомой мишени *R.rubellae* известным нуклеотидным последовательностям различных организмов при использовании международной базы данных NCBI [Ошибка! Закладка не определена.] (фрагмент)

В ходе проведения опытно-конструкторских работ подобран состав реакционной смеси, включающий специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды с флуоресцентной меткой типа «ТаqМаn», дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, буфер, ферменты (ТаqF-полимераза, обратная транскриптаза ТМ-ревертаза (М-MLV)), и условия выполнения ОТ-ПЦР-РВ на амплификаторах различного типа, представленные в таблице 4.9.

Контроль качества выполнения каждого этапа ПЦР-исследования осуществлялся при помощи использования экзогенного неконкурентного рекомбинантного ВКО, добавляемого в исследуемые образцы биологического материала (плазма венозной крови, плазма пуповинной крови, мазок со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мазок со слизистой оболочки ротоглотки, слюна,

амниотическая жидкость, тканевой (биопсийный, аутопсийный, операционный) материала) на этапе экстракции.

Таблица 4.9 — Программа амплификации, используемая при выполнении методики качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ

Цикл	При	бор роторного типа*		Прибо	р планшетного типа	<
	темпера-	продолжитель-	коли-	темпера-	продолжитель-	коли-
	тура, °С	ность	чество	тура, °С	ность	чество
			циклов			циклов
1	50	15 мин	1	50	15 мин	1
2	95	15 мин	1	95	15 мин	1
	95	5 c		95	5 c	
3	60	20 с	5	60	20 с	5
	72	15 c		72	15 c	•
	95	5 c		95	5 c	
		20 с			30 с	
		детекция			детекция	
4	(0)	флуоресцентного	40	(0)	флуоресцентного	40
4	60	сигнала для	40	60	сигнала для	40
		флуорофоров			флуорофоров FAM,	
		FAM, JOE/HEX			JOE/HEX	
	72	15 c		72	15 c	-

П р и м е ч а н и е -*Прибор для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q, Qiagen GmbH, Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года); ** амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278 ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация (РУ № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года)

Экзогенный неконкурентный рекомбинантный ВКО представлял собой искусственно сконструированный фрагмент РНК, клонированный в бактериофаг MS2. Таким образом, на этапе амплификации предусмотривалось проведение

амплификации одновременно двух мишеней. Результаты амплификации регистрировались по двум каналам флуоресцентной детекции: FAM — участка кДНК экзогенного неконкурентного рекомбинантного ВКО, JOE/HEX — искомой мишени — кДНК *R.rubellae*.

Для оценки качества получаемых результатов использовались 4 контрольных образца:

- 1) положительный контроль этапа экстракции искусственно сконструированный специфический фрагмент РНК неструктурного гена регуляторного белка вируса краснухи р150, клонированный в бактериофаг MS2;
- 2) положительный контроль этапа амплификации искусственно сконструированные фрагменты кДНК неструктурного гена регуляторного белка вируса краснухи р150 и экзогенного неконкурентного рекомбинантного ВКО, клонированные в ДНК фаги-λ;
 - 3) отрицательный контроль этапа экстракции;
 - 4) отрицательный контроль этапа амплификации.

Отрицательные контрольные образцы представляли собой стерильный раствор, не содержащий РНК и ДНК, и позволяли контролировать возможную кросс-контаминацию другими исследуемыми образцами или ампликонами в ходе ПЦР-исследования.

Проверка аналитической специфичности разработанной методики качественного определения РНК вируса краснухи в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ, представила отсутствие ложноположительных результатов при тестировании РНК, ДНК 30 различных микроорганизмов, а также геномной ДНК человека в 100% случаев (таблица 4.10).

Для определения аналитической чувствительности методики, предназначенной для качественного определения РНК вируса краснухи в различном биологическом материале методом ОТ-ПЦР-РВ, использовали серии последовательных (10-кратных и 2-кратных) разведений живого аттенуированного вакцинного штамма *R.rubellae* Wistar RA 27/3M (Pasteur

Merieux Connaught, Франция) и РНК идентифицируемого возбудителя известной концентрации.

Таблица 4.10 — Аналитическая специфичность разработанной методики качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Cytomegalovirus humanbeta5	штамм Merlin	не обнаружено
ДНК Erythroparvovirus primatel	клинический изолят	не обнаружено
PHK Hepacivirus hominis	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Hepatitis B virus	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Homo sapiens	«Sigma-Aldrich», CША	не обнаружено
ДНК Human mastadenovirus B	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human mastadenovirus C	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human mastadenovirus E	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human papillomavirus тип 11	клинический изолят	не обнаружено
Alphapapillomavirus 10		
ДНК Human papillomavirus тип 16 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human papillomavirus тип 18 Alphapapillomavirus 7	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human papillomavirus тип 33 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human papillomavirus тип 35 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Human papillomavirus тип 6	клинический изолят	не обнаружено
Alphapapillomavirus 10		
ДНК Listeria monocitogenes	штамм АТСС® 7644ТМ	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.10

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Lymphocryptovirus	штамм В95-8	не обнаружено
humangamma4		
PHK Morbillivirus hominis	штамм Нов 96	не обнаружено
ДНК Mycobacterium tuberculosis	штамм Erdmann	не обнаружено
PHK Orthorubulavirus parotitidis	штамм Драгун	не обнаружено
PHK Orthorubulavirus parotitidis	штамм ПетроНов	не обнаружено
ДНК Proteus vulgaris	штамм ОХ	не обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta6a	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta6b	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta7	клинический изолят	не обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм Орлов	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм Judith	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм М-33	o Swamen and
T IIK Kubivirus rubeitae	mraww w-33	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм Wistar RA 27/3М	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм Wistar RA 27/3М	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae ДНК Salmonella typhimurium	штамм Wistar RA 27/3М штамм TR-1	обнаружено не обнаружено
PHK Rubivirus rubellae ДНК Salmonella typhimurium ДНК Shigella flexneri	штамм Wistar RA 27/3М штамм TR-1 клинический изолят	обнаружено не обнаружено не обнаружено
PHK Rubivirus rubellae ДНК Salmonella typhimurium ДНК Shigella flexneri ДНК Simplexvirus humanalpha l	штамм Wistar RA 27/3М штамм TR-1 клинический изолят клинический изолят	обнаружено не обнаружено не обнаружено не обнаружено
PHK Rubivirus rubellaeДНК Salmonella typhimuriumДНК Shigella flexneriДНК Simplexvirus humanalpha1ДНК Simplexvirus humanalpha2	штамм Wistar RA 27/3М штамм TR-1 клинический изолят клинический изолят клинический изолят	обнаружено не обнаружено не обнаружено не обнаружено не обнаружено

Оценка аналитической чувствительности (предела обнаружения) показала, что разработанная методика, предназначенная для качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ, позволяет выявлять 400 копий РНК *R.rubellae*/мл исследуемого образца биологического материала (таблица 4.11).

Таблица 4.11 — Аналитическая чувствительность методики качественного определения РНК возбудителя краснушной инфекции в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ

Вид биологического	Наименование транспортной	Объем	Предел
материала	среда	образца для	обнаружения,
		экстракции,	копий/мл
		МКЛ	
Плазма (венозной,			
пуповинной) крови			
Мазок со слизистой			
оболочки носо- и	«Транспортная среда для		
ротоглотки	хранения и транспортировки		
Мазок со слизистой	респираторных мазков»*	100	400
оболочки ротоглотки		100	400
Слюна	_		
Амниотическая жидкость	_		
Тканевой (биопсийный,	«Троионортноя срои» с		
аутопсийный,	«Транспортная среда с		
операционный) материал	муколитиком (ТСМ)»		

Примечание—*Реагент для взятия, транспортировки и хранения мазков из верхних дыхательных путей «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» по ТУ 9398-083-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/05011 от 09 апреля 2019 года); **реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» по ТУ 9398-098-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03993 от 22 февраля 2019 года)

Экстракцию РНК проводили с помощью комплектов реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора: «РИБО-сорб» по ТУ 9398-004-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03993 от 22 февраля 2019 года), «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года).

Повторяемость и воспроизводимость результатов исследования при использовании методики качественного определения РНК *R.rubellae* на основе ОТ-ПЦР-РВ, установили путем тестирования положительных (концентрация РНК вируса $5x10^3$ копий/мл) и отрицательных модельных образцов аналогично описанному выше в подглаве 4.1. Результаты оценки повторяемости и воспроизводимости результатов исследования представлены в таблице 4.12.

Таблица 4.12 — Повторяемость и воспроизводимость результатов исследования, проводимого с использованием методики качественного определения РНК *R.rubellae* на основе ОТ-ПЦР-РВ

Тип образца	Повтор	яемость	Воспроиз	водимость
	количество,	совпадение	количество,	совпадение
	абс.	результатов, %	абс.	результатов, %
Положительный	20	100	50	100
Отрицательный	20	100	50	100

Для оценки потенциальной интерференции на результаты исследования, проводимого с использованием методики качественного определения РНК вируса краснухи на основе ОТ-ПЦР-РВ, протестированы модельные образцы заявленного биологического материала без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ в концентрации, представленной в таблице 4.13. В модельные образцы добавляли РНК *R.rubellae* до концентраций равной пределу обнаружения.

Сравнительную оценку аналитической чувствительности выявления *R.rubellae* культуральным методом и его РНК методом ОТ-ПЦР-РВ выполнена в отделе арбовирусов и экспериментального производства (руководитель – доктор биологических наук, профессор А. М. Бутенко) ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Таблица 4.13 – Оценка влияния потенциальной интерференции на результаты исследования, проводимого с использованием методики качественного определения РНК R.rubellae в различном биологическом материале на основе ОТ-ШІР-РВ

Вид биологического материала	Тип	Наименование	Концентрация	Комплект	Наличие
	потенциального	потенциального		реагентов для	интерференции
	интерферента	интерферента		экстракции РНК	
	эндогенное	темоглобин	250 т/π	«РИБО-сорб»	не обнаружено
	вещество			«РИБО-преп»	не обнаружено
Плазма (венозной,		шитий гепарин	от 12 по 30 МЕ/мп	«PMBO-cop6»	обнаружено
пуповинной) крови	экзогенное			«РИБО-преп»	обнаружено
	вещество	АТПЕ йипех	2 0 ME/MII	«PMBO-cop6»	не обнаружено
				«РИБО-преп»	не обнаружено
		TOWN DOD THEM	%5	«PMBO-cop6»	не обнаружено
	эндогенное	цельпал кровь	•	«РИБО-преп»	не обнаружено
Meson co currenced observed	вещество	МАНИИ	0.15 мг/мп	«PMBO-cop6»	не обнаружено
HOCO- U DOTOĽJOTKU			, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	«РИБО-преп»	не обнаружено
•	экзогенное	водный раствор	/03 C	«РИБО-сорб»	не обнаружено
	вещество	хлоргексидина биглюконата	7,2%	«РИБО-преп»	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.13

Вид биологического материала	Тип	Наименование	Концентрация	Комплект	Наличие
	потенциального	потенциального		реагентов для	интерференции
	интерферента	интерферента		экстракции РНК	
		HATTERS CHOOL	%\$	«PMBO-cop6»	не обнаружено
	эндогенное	Tempus vhopp	•	«РИБО-преп»	не обнаружено
Мэзок со стизистой оболовки	вещество	нини	0.15 sur/sur	«PMBO-copó»	не обнаружено
DOTOLIOTKY		муции	17M / IM C1,0	«РИБО-преп»	не обнаружено
	экзогенное	водный раствор	703 C	«РИБО-сорб»	не обнаружено
	вещество	биглюконата	6/5/7	«РИБО-преп»	не обнаружено
		петьная кновь	%5	«PMBO-cop6»	не обнаружено
	эндогенное			«РИБО-преп»	не обнаружено
	вещество	пини	0.15 var/var	«PMBO-cop6»	не обнаружено
Слюна		M. y 1,11111	17 MIL 1877	«РИБО-преп»	не обнаружено
	экзогенное	водный раствор	2.5%	«РИБО-сорб»	не обнаружено
	вещество	биглюконата		«РИБО-преп»	не обнаружено
Аминотинеого чениеость	эндогенное	HATT DOD THOUS	%\$	«PMBO-cop6»	не обнаружено
CAMINIO INTECNAR ANDROCID	вещество	Helibiaa Apobb	0	«РИБО-преп»	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.13

Вид биологического материала	Тип	Наименование	Концентрация	Комплект	Наличие
	потенциального	потенциального		реагентов для	интерференции
	интерферента	интерферента		экстракции РНК	
Тканевой (биопсийный,	эндогенное		-/- 030	«РИБО-сорб»	не обнаружено
операционный, аутопсийный) материал	вещество	гемоглооин	17.1 0.22	«РИБО-преп»	не обнаружено
Примечание «РИБО-сорб» – комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического «РИБО-сорб» по ТУ 9398-004-	л-сорб» – комплект ре	агентов для выделения	г РНК/ДНК из клини	ческого «РИБО-сорб	» по ТУ 9398-004-

01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03993 от 22 февраля 2019 года); «РИБО-преп» – комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора Инфекционную активность R.rubellae трех вакцинных (Wistar RA 27/3 (США), M–33 (Королевство Дания), Орлов (Российская Федерация)) и одного дикого штамма (Judith (ФРГ)) оценивали по заражению клеток Vero E6 при проведении последовательных 10-кратных разведений (до 10^{-8}). Учет реакции проводили ежедневно в течение 7 дней, наблюдая за развитием ЦПД вируса на клетки. Титр вируса оценивали в 10 + 100 + 100 = 100

Анализ полученных результатов сравнения молекулярно-биологического и вирусологического методов показал, что аналитическая чувствительность разработанной методики качественного определения РНК вируса краснухи на основе ОТ-ПЦР-РВ превышала аналитическую чувствительность метода заражения культуры клеток Vero E6 штаммами *R.rubellae* Wistar RA 27/3 и Орлов на 1,0 lg и 3,0 lg, соответственно, а M-33 и Judith – не различалась (рисунок 4.4).

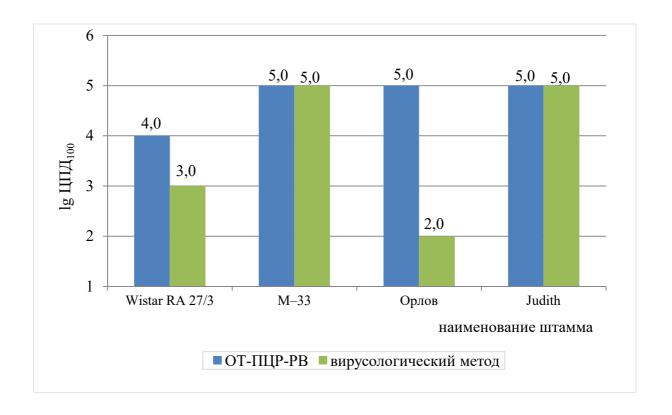


Рисунок 4.4 — Сравнительная оценка аналитической чувствительности разработанной методики и вирусологического метода

Для определения диагностических характеристик разработанной методики качественного определения РНК R.rubellae на основе ОТ-ПЦР-РВ использовано 2610 образцов заявленного биологического материала, полученного от пациентов в возрасте от 1 года до 48 лет (Ме=25 лет) с подтвержденным диагнозом по МКБ 10: В06 Краснуха [немецкая корь], включая В06.0 Краснуха с неврологическими осложнениями, В06.8 Краснуха с другими осложнениями, В06.9 Краснуха без осложнений, В05 Корь, В08.3 Эритема инфекционная (пятая болезнь), А38 Скарлатина, условно-здоровых доноров крови, пациентов с соматической патологией при отсутствии клинических проявлений острого инфекционного заболевания и отрицательными результатами лабораторного обследования на маркеры краснухи (вирусоспецифические AT-IgM, AT-IgG) методом ИФА, в возрасте 18-45 лет (Me=25 лет), а также модельные образцы биологического материала с добавлением живого аттенуированного вакцинного штамма R.rubellae Wistar RA 27/3M (Pasteur Merieux Connaught, Франция) концентрации от 500 до $5x10^5$ копий/мл. Сбор образцов биологического материала проведен на базе ГБУЗ «ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ, ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ, ГБУ3 «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

В качестве референтного использовался метод прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру). Результаты тестирования методики качественного определения РНК *R.rubellae* в заявленных видах биологического материала на основе ОТ-ПЦР-РВ в сравнении с референтным методом представлены в таблице 4.14.

В результате проведенных исследований определены следующие параметры для разработанной методики качественного определения РНК *R.rubellae* на основе ОТ-ПЦР-РВ при тестировании образцов плазмы венозной, пуповинной крови; мазков со слизистой оболочки носо- и ротоглотки; мазков со слизистой оболочки ротоглотки; слюны; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, операционного, аутопсийного) материала в сравнении с референтным методом:

диагностическая чувствительность -100% (95% ДИ [98,03-100%]), диагностическая специфичность -100% (95% ДИ [98,54-100%]) (таблица 4.15).

Таблица 4.14 — Результаты тестирования методики качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ в сравнении референтным методом

Вид биологического		Результаты -	гестирования		
материала	разработа	нная методика	референтный метод		
			положительные	отрицательные	
Плазма (венозной,	всего	положительные	185	0	
пуповинной) крови	исследовано 435 образцов	отрицательные	0	250	
Мазок со слизистой	всего исследовано 435 образцов	положительные	185	0	
оболочки носо- и ротоглотки		отрицательные	0	250	
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки	всего исследовано	положительные	185	0	
	435 образцов	отрицательные	0	250	
Слюна	всего исследовано	положительные	185	0	
	435 образцов	отрицательные	0	250	
Амниотическая	всего исследовано	положительные	185	0	
жидкость	435 образцов	отрицательные	0	250	
Тканевой (биопсийный,	всего	положительные	185	0	
• •	исследовано 435 образцов	отрицательные	0	250	

Таблица 4.15 — Диагностические характеристики методики качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ в сравнении с референтным методом

Вид биологического	Диагностическая	Диагностическая
материала	чувствительность [ДИ 95%], %	специфичность [ДИ 95%], %
Плазма (венозной, пуповинной) крови	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]
Мазок со слизистой оболочки носо- и ротоглотки	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]
Слюна	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]
Амниотическая жидкость	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]
Тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал	100 [98,03–100]	100 [98,54–100]

Таким образом, в результате проведенных научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ предложена методика на основе ОТ-ПЦР-РВ, предназначенная для качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале (образцы плазмы венозной, пуповинной крови; мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки; мазка со слизистой оболочки ротоглотки; слюны; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, аутопсийного, операционного) материала). Материалом для проведения ОТ-ПЦР-РВ служат пробы РНК, экстрагированные из исследуемого биологического материала. Показаны высокие аналитические характеристиками разработанной методики: аналитическая специфичность — 100%, аналитическая чувствительность — 400 копий РНК *R.rubellae*/мл исследуемого образца биологического материала, повторяемость и воспроизводимость исследования — 100%. Изучено действие

интерферирующих потенциально веществ на результаты исследования. Аналитическая чувствительность методики, предназначенной для качественного определения РНК вируса краснухи в биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ превышала аналитическую чувствительность метода заражения культуры клеток Vero E6 штаммами R.rubellae Wistar RA 27/3 и Орлов на 1,0 lg и 3,0 lg, соответственно, а M-33 и Judith – аналогичные параметры. Диагностические чувствительность и специфичность методики качественного определения РНК R.rubellae в заявленных видах биологического материала на основе ОТ-ПЦР-РВ по сравнению с референтным методом составили 100% (95% ДИ [98,03-100%]) и 100% ДИ [98,54–100%]) соответственно. Разработанная (95% качественного определения РНК R.rubellae в различном биологическом материале на основе ОТ-ПЦР-РВ может являться базисом для создания набора реагентов для лабораторной диагностики краснухи у пациентов различного возраста, в том числе рамках при установлении окончательного диагноза проведения И дифференциальной диагностики экзантемных заболеваний, ВУИ.

4.3 Разработка методики качественного и количественного определения ДНК Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

При разработке методики, предназначенной для качественного и количественного определения ДНК одновременно двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, а именно *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, на основе ПЦР-РВ выбрана одна специфическая диагностическая мишень — участок гена, кодирующего каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы вирусов. Размер амплифицируемого фрагмента составил 76 п.о. (GC-состав 57%, температура плавления — 79,3 °C).

Выбор специфических олигонуклеотидных праймеров и зондов с флуоресцентной меткой типа «ТаqMan» произведен кандидатом медицинских

наук О. Ю. Шипулиной. Проведенный анализ молекулярной структуры выбранных нуклеотидных последовательностей специфических олигонуклеотидных праймеров и зондов с флуоресцентной меткой типа «ТаqМаn», позволяющих выявлять ДНК заявленных возбудителей, на предмет наличия гомологии с частично и полностью секвенированными геномами различных организмов совпадений не выявил.

В результате опытно-конструкторских работ подобран состав реакционной смеси, включающий специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды с флуоресцентной меткой типа «ТаqМаn», дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, буфер, фермент ТаqF-полимеразу, и условия выполнения ПЦР-РВ на амплификаторах различного типа, представленные в таблице 4.16.

Проведенные эксперименты показали, что программы амплификации считаются равнозначными и тестирование на одной программе приравнивается к тестированию на двух программах. С использованием программы амплификации варианта 2 возможно одновременное сочетание разработанных методик, включая методики с обратной транскрипцией и амплификацией, в одном приборе.

Таблица 4.16 — Программы амплификации, используемые при выполнении методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

4.16.1 – Вариант 1

Цикл	Пр	ибор роторного типа*		Прибор планшетного типа		
	темпера-	продолжительность	коли-	темпера-	продолжительность	коли-
	тура, °С		чество	тура, °С		чество
			циклов			циклов
1	95	15 мин	1	95	15 мин	1

Продолжение таблицы 4.16.1

Цикл	Γ	Ірибор роторного тиг	та*	Пр	ибор планшетного тип	* * [a
	темпера-	продолжительность	коли-	темпера-	продолжительность	коли-
	тура, °С		чество	тура, °С		чество
			циклов			циклов
	95	5 c		95	5 c	
2	60	20 с	5	60	20 с	5
	72	15 с		72	15 c	
	95	5 c		95	5 c	
		20 с			30 c	
		детекция			детекция	
3	60 флуоресцентного сигнала для	40	60	флуоресцентного	40	
		сигнала для	40 60	60	сигнала для	40
		флуорофоров			флуорофоров	
		FAM, JOE/HEX			FAM, JOE/HEX	
	72	15 с		72	15 c	

Примечание – *Прибор для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q, Qiagen GmbH, Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года); **амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278 ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация (РУ № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года)

4.16.2 – Вариант 2

Цикл	Пр	Прибор роторного типа*		Приб	ор планшетного типа	*
	темпера-	продолжительность	коли-	темпера-	продолжительность	коли-
	тура, °С		чество	тура, °С		чество
			циклов			циклов
1	50	15 мин	1	50	15 мин	1
2	95	15 мин	1	95	15 мин	1
	95	5 c		95	5 c	
3	60	20 с	5	60	20 с	5
	72	15 c		72	15 c	

Продолжение таблицы 4.16.2 – Вариант 2

Цикл	Пр	ибор роторного типа*		Приб	ор планшетного типа	*
	темпера-	продолжительность	коли-	темпера-	продолжительность	коли-
	тура, °С		чество	тура, °С		чество
			циклов			циклов
	95	5 c		95	5 c	
		20 с			30 с	
		детекция			детекция	
4	60	флуоресцентного	40	60	флуоресцентного	40
		сигнала для		00	сигнала для	40
		флуорофоров FAM,			флуорофоров FAM,	
		JOE/HEX			JOE/HEX	
	72	15 c		72	15 c	

П р и м е ч а н и е -*Прибор для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q, Qiagen GmbH, Германия (РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года); **амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278 ООО «НПО ДНК-Технология», Российская Федерация (РУ № ФСР 2011/10229 от 03 марта 2011 года)

Принцип тестирования основывался на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала (цельная венозная, пуповинная кровь; лейкоциты венозной, пуповинной крови; плазма венозной, пуповинной крови; мазок со слизистой оболочки ротоглотки; слюна; моча; спинномозговая жидкость; амниотическая жидкость, тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал) и одновременной амплификации специфических участков ДНК выявляемых вирусов и ДНК β-глобинового гена человека с гибридизационнофлуоресцентной детекцией. Использование эндогенного неконкурентного ВКО (ДНК β-глобинового гена человека) позволяло контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца, оценивать адекватность взятия биологического материала, а также его транспортировки, хранения. Таким образом, на этапе амплификации предусматривалось одновременное проведение амплификации двух ДНК-мишеней с регистрацией результатов по двум каналам флуоресцентной детекции. По каналу FAM — ДНК β-глобинового гена человека (эндогенный

контроль), а по каналу JOE/HEX — искомой мишени — ДНК одновременно ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*

Для оценки качества получаемых результатов использовался положительный контроль этапа экстракции и амплификации — искусственно сконструированные фрагменты ДНК гена, кодирующего каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* и ДНК β-глобинового гена человека, клонированные в плазмиды pGem-T. А также два отрицательных контроля: этапа экстракции и этапа амплификации. Отрицательные контрольные образцы (стерильный раствор, не содержащий ДНК и РНК) позволяли контролировать возможную кроссконтаминацию другими исследуемыми образцами или ампликонами в ходе ПЦР-исследования.

Оценка концентрации ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, ДНК βглобинового гена человека в исследуемых образцах проводилась относительно образцов калибровочных (ДНКколичественно охарактеризованных калибраторов). Анализ калибровочных образцов выполнялся параллельно с исследуемыми образцами, начиная с этапа амплификации. Для проведения количественной оценки исходя из заданных значений концентрации ДНКкалибраторов И полученных значений порогового цикла, происходило автоматическое построение калибровочной прямой и расчет значений концентраций R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, β -глобинового гена копиях/реакцию. Полученные значения использовались для расчета количества копий ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b в 1 мл образцов цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов венозной, пуповинной крови; плазмы венозной, пуповинной крови; мазка со слизистой оболочки ротоглотки; слюны; мочи; спинномозговой жидкости; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, операционного, аутопсийного) материала согласно формуле:

Расчет нормированных значений концентрации ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* производился согласно формуле:

(4.2)

Нормированные значения концентраций отражали количество клеток возбудителя относительно количества клеток человека.

При проверке аналитической специфичности разработанной методики, предназначенной для качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ, показано отсутствие ложноположительных результатов при тестировании ДНК, РНК 38 различных микроорганизмов, а также геномной ДНК человека в 100% случаев (таблица 4.17).

Таблица 4.17 — Аналитическая специфичность методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Acinetobacter baumannii	штамм АТСС® 19606тм	не обнаружено
ДНК Betapolyomavirus hominis	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Betapolyomavirus secuhominis	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Candida albicans	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Candida glabrata	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Candida krusei	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Candida parapsilosis	клинический изолят	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.17

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Candida tropicalis	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Cytomegalovirus humanbeta5	штамм Merlin	не обнаружено
ДНК Enterococcus faecalis	штамм АТСС® 29212 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Enterovirus spp.	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Erythroparvovirus primate1	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Escherichia coli	штамм АТСС® 25922 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Haemophilus influenzae	штамм АТСС® 33930тм	не обнаружено
ДНК Homo sapiens	«Sigma-Aldrich», CША	не обнаружено
ДНК Klebsiella pneumoniae	штамм АТСС® 27736 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Listeria grayi	штамм АТСС® 25401 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Listeria innocua	штамм АТСС® 33090тм	не обнаружено
ДНК Listeria monocitogenes	штамм АТСС® 7644ТМ	не обнаружено
ДНК Lymphocryptovirus	штамм В95-8	не обнаружено
humangamma4		
ДНК Moraxella catarrhalis	штамм АТСС® 25240тм	не обнаружено
ДНК Mycobacterium tuberculosis	штамм Erdmann	не обнаружено
ДНК Pneumocystis jirovecii	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Pseudomonas aeruginosa	штамм АТСС® 15442 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta6a	клинический изолят	обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta6b	клинический изолят	обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta6b	штамм Z-29	обнаружено
PHK Rubivirus rubellae	штамм Wistar RA 27/3М	не обнаружено
ДНК Roseolovirus humanbeta7	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Simplexvirus humanalpha1	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Simplexvirus humanalpha2	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Staphylococcus aureus	штамм АТСС® 29213 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Staphylococcus aureus (MRSA)	штамм АТСС® 43300тм	не обнаружено
ДНК Staphylococcus epidermidis	штамм АТСС® 12228тм	не обнаружено
ДНК Staphylococcus haemolyticus	штамм АТСС® 29970тм	не обнаружено
ДНК Staphylococcus saprophyticus	штамм АТСС® 49907 ^{тм}	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.17

Аналит	Источник происхождения	Результат
ДНК Streptococcus pneumoniae	клинический изолят	не обнаружено
ДНК Streptococcus pyogenes	штамм АТСС® 19615 ^{тм}	не обнаружено
ДНК Toxoplasma gondii	штамм RH	не обнаружено
ДНК Varicellovirus humanalpha3	клинический изолят	не обнаружено

Результаты проверки аналитической чувствительности (предел обнаружения) и диапазона измерения представлены в таблице 4.18. Повторяемость и воспроизводимость результатов исследования (таблица 4.19), правильность 4.20) при измерений (таблица использовании разработанной методики тестирования установлены положительных (концентрация ДНК путем R.humanbeta6a и R.humanbeta6b $1x10^5$ копий/мл) и отрицательных модельных образцов. Условия повторяемости и воспроизводимости соблюдены аналогично описанному выше (подглава 4.1). Экстракцию ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБОпреп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года).

Таблица 4.18 — Предел обнаружения и диапазон измерения методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Вид биологического материала	Объем	Предел	Диапазон
	образца для	обнаружения,	измерения,
	экстракции,	копии/мл	копии/мл
	МКЛ		
Цельная (венозная, пуповинная) кровь	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Лейкоциты (венозной, пуповинной) крови	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Плазма (венозной, пуповинной) крови	100	400	$500 - 1 \times 10^7$

Продолжение таблицы 4.18

Вид биологического материала	Объем	Предел	Диапазон
	образца для	обнаружения,	измерения,
	экстракции,	копии/мл	копии/мл
	МКЛ		
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Слюна	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Моча	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Спинномозговая жидкость	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Амниотическая жидкость	100	400	$500 - 1 \times 10^7$
Тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал	100	400	$500 - 1 \times 10^7$

Для оценки потенциальной интерференции протестированы модельные образцы заявленного биологического материала без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ в концентрации, указанной в таблице 4.21. В модельные образцы добавляли ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* до концентрации, равной пределу обнаружения. Экстракцию ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от от 06 августа 2021 года).

Таблица 4.19 — Повторяемость и воспроизводимость результатов исследования, проводимого с использованием методики качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

SD CV, %				0,04 0,82		I	0,17 3,38	I
Количество Концентрация	образцов, (М), 1g копий/мл			5,09		I	5,11	I
Количество	образцов,	абс.		10		10	30	30
Ожидаемое	значение	концентрации, lg	копий/мл	5,0		I	5,0	ı
Аналит				ДНК R.humanbeta6a и	K.humanbetabb	I	ДНК R.humanbetaба и R.humanbeta6b	I
Объем	образца для	экстракции,	MKJI	100		100	100	100
Показатель					Повторяемость		c	Боспроизводимость

Таблица 4.20 – Правильность измерений, проводимых с использованием методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

B, %				2,24
Концентрация (М),	lg копий/мл			5,11
Ожидаемое	значение	концентрации,	lg копий/мл	5,0
Количество	образцов,	абс.		30
Аналит				ДНК R.humanbetaба и R.humanbetaбb
Объем	образца для	экстракции,	MKJI	100
Показатель				Правильность

Таблица 4.21 – Оценка влияния потенциальной интерференции на результаты исследования, проводимого с использованием методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ

Наличие	интерференции		не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	обнаружено	не обнаружено
Концентрация			210 мкмоль/л	77,6 ммоль/л	37,6 ммоль/л	250 г/л	от 12 до 30 МЕ/мл	2,0 мг/мл	210 мкмоль/л	77,6 ммоль/л	37,6 ммоль/л	250 г/л	от 12 до 30 МЕ/мл	2,0 мг/мл
Наименование	потенциального	интерферента	билирубин	холестерин	триглицериды	гемоглобин	литий гепарин	калий ЭДТА	билирубин	холестерин	триглицериды	гемоглобин	литий гепарин	калий ЭДТА
Тип	потенциального	интерферента		Одгуенное вопредопис			отлогинов решество			Оатганная воннатопна			одтлешное вещество	
Вид биологического материала					Цельная (венозная, пуповинная)	кровь					Лейкоциты (венозной, пуповинной)	крови		

Продолжение таблицы 4.21

Вид биологического материала	Тип	Наименование	Концентрация	Наличие
	потенциального	потенциального		интерференции
	интерферента	интерферента		
Ппазма (венозной пуповинной)	эндогенное вещество	гемоглобин	250 г/л	не обнаружено
Knoby	экзогенное вешество	литий гепарин	от 12 до 30 МЕ/мл	обнаружено
		калий ЭДТА	2,0 мг/мл	не обнаружено
	энпогенное вешество	цельная кровь	5%	не обнаружено
Мазок со спизистой оболочки		муцин	0,15 мг/мл	не обнаружено
потописки		водный раствор		
Forestand	экзогенное вещество	хлоргексидина	2,5%	не обнаружено
		биглюконата		
	энпогенное вешество	цельная кровь	5%	не обнаружено
		муцин	0,15 мг/мл	не обнаружено
Слюна		водный раствор		не обнаружено
	экзогенное вещество	хлоргексидина	2,5%	
		биглюконата		не обнаружено
Моча	эндогенное вещество	альбумин	$500~\mathrm{Mr/J}$	не обнаружено
THE CONTRACTOR WENT THE COMME	Outhouthou bottmoround	глюкоза	10 ммоль/л	не обнаружено
Спинномозговая жидкоств	эндогенное вещество	лейкоциты	$500 \mathrm{ke}/\mathrm{mm}^3$	не обнаружено

Продолжение таблицы 4.21

Вид биологического материала	Тип	Наименование	Концентрация	Наличие
	потенциального	потенциального		интерференции
	интерферента	интерферента		
Амниотическая жидкость	эндогенное вещество	цельная кровь	%5	не обнаружено
Тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный)	эндогенное вещество	гемоглобин	250 г/л	не обнаружено
материал				

Для определения диагностических характеристик разработанной методики ДНК определения R.humanbeta6a качественного И количественного *R.humanbeta6b* на основе ПЦР-РВ использовано 4950 образцов заявленного биологического материала, полученного от детей в возрасте от года до трех лет (Ме=2,5 года) с подтвержденным диагнозом по МКБ 10: В08.2 Экзантема внезапная (шестая болезнь), детей и взрослых в возрасте 4-36 лет (Me=19 лет) с острой и хронической ВГЧ-6а/b-инфекцией, лабораторно подтвержденной на основании данных (сероконверсия или увеличение титра вирусоспецифических AT-IgG в 2-4 раза при тестировании парных образцов сыворотки венозной крови) ИФА; условно-здоровых доноров крови и пациентов с соматической патологией при отсутствии клинических проявлений острого инфекционного заболевания в возрасте 18-45 лет (Me=25 лет), а также модельные образцы биологического материала с добавлением СОП, содержащим ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, до концентрации от 500 до $5x10^5$ копий/мл. Сбор образцов биологического материала проведен на базе ГБУЗМ Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова ДЗМ, ГБУЗ «ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ», ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ, ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

В качестве референтного метода использовались: метод прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру) и метод цифровой капельной ПЦР. Результаты тестирования методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении с референтными методами представлены в таблице 4.22.

Таблица 4.22 — Результаты тестирования методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении референтными методами

Вид		Результаты	тестирования		
биологического	разработан	ная методика	референт	ный метод	
материала			положительные	отрицательные	
Цельная (венозная,	всего исследовано	положительные	250	0	
пуповинная) кровь	550 образцов	отрицательные	0	300	
Лейкоциты (венозной,	всего исследовано	положительные	250	0	
пуповинной) крови	550 образцов	отрицательные	0	300	
Плазма (венозной,	всего исследовано	положительные	250	0	
пуповинной) крови	550 образцов	отрицательные	0	300	
Мазок со слизистой	всего исследовано	положительные	250	0	
оболочки ротоглотки	550 образцов	отрицательные	0	300	
Слюна	всего исследовано	положительные	250	0	
	550 образцов	отрицательные	0	300	
Моча	всего исследовано	положительные	250	0	
	550 образцов	отрицательные	0	300	
Спинномозговая	всего исследовано	положительные	250	0	
жидкость	550 образцов	отрицательные	0	300	
Амниотическая	всего исследовано	положительные	250	0	
жидкость	550 образцов	отрицательные	0	300	

Продолжение таблицы 4.22

Вид		Результаты	тестирования		
биологического	разработан	ная методика	референтный метод		
материала			положительные	отрицательные	
Тканевой (биопсийный,	всего	положительные	250	0	
операционный, аутопсийный) материал	исследовано 550 образцов	отрицательные	0	300	

В результате проведенных исследований определены следующие параметры для разработанной методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* на основе ПЦР-РВ при тестировании образцов цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов венозной, пуповинной крови; плазмы венозной, пуповинной крови; мазка со слизистой оболочки ротоглотки; слюны; мочи; спинномозговой жидкости; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, операционного, аутопсийного) материала в сравнении с референтными методами: диагностическая чувствительность – 100% (95% ДИ [98,54–100%]), диагностическая специфичность – 100% (95% ДИ [98,78–100%]) (таблица 4.23).

Таблица 4.23 — Диагностические характеристики методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ в сравнении с референтными методами

Вид биологического	Диагностическая	Диагностическая
материала	чувствительность [ДИ 95%], %	специфичность [ДИ 95%], %
Цельная (венозная,	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
пуповинная) кровь	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]

Продолжение таблицы 4.23

Вид биологического	Диагностическая	Диагностическая
материала	чувствительность [ДИ 95%], %	специфичность [ДИ 95%], %
Лейкоциты (венозной,	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
пуповинной) крови	100 [50,51 100]	100 [50,70 100]
Плазма (венозной,	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
пуповинной) крови	100 [50,6 : 100]	100 [50,70 100]
Мазок со слизистой	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
оболочки ротоглотки	[).	[)]
Слюна	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
Моча	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
Спинномозговая жидкость	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
Амниотическая жидкость	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
Тканевой (биопсийный,		
операционный,	100 [98,54–100]	100 [98,78–100]
аутопсийный) материал		

При апробации разработанной методики качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b на ПЦР-РВ основе использовалась панель контрольных биологических образцов пациентов с ВГЧба/b-инфекцией или с установленным наследуемым хромосомно-интегрированным ВГЧ-6а/b-статусом, условно-здоровых доноров крови, представляющая собой 10 зашифрованных проб, охарактеризованных с помощью методов прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру) (определение вида) и цифровой капельной ПЦР (определение концентрации ДНК): 8 положительных И 2 отрицательных. Положительные пробы – биологического материала, содержащие ДНК R.humanbeta6a или R.humanbeta6b в концентрации от 10^4 до 10^6 копий/мл. Отрицательные — образцы биологического материала, не содержащие ДНК *R.humanbeta6a* или *R.humanbeta6b*.

При использовании разработанной методики панель контрольных образцов расшифрована на 100%, полученные количественные результаты коррелировали в пределах допустимых погрешностей используемого метода ПЦР-РВ с

первоначально заданными параметрами (таблица 4.24). Следовательно, методика качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ позволяет со 100% эффективностью проводить идентификацию ДНК заявленных патогенов с одновременной количественной оценкой получаемого результата.

Таким образом, в результате проведенных научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ предложена методика на основе ПЦР-РВ, предназначенная для качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b в различном биологическом Материалом для проведения ПЦР-РВ служат пробы ДНК, экстрагированные из образцов цельной венозной, пуповинной крови; лейкоцитов венозной, пуповинной крови; плазмы венозной, пуповинной крови; слюны; мазка со слизистой оболочки ротоглотки; мочи; спинномозговой жидкости; амниотической жидкости; тканевого (биопсийного, аутопсийного) операционного, материала. Аналитические характеристики разработанной методики: аналитическая специфичность – 100%, аналитическая чувствительность – 400 копий ДНК искомых микроорганизмов/мл исследуемого образца биологического материала, диапазон измерений – $500-1 \times 10^7$ R.humanbeta6a копий ДНК И *R.humanbeta6b*/мл исследуемого образца биологического материала, повторяемость и воспроизводимость исследования – 100%. Проведено изучение правильности измерений, а также интерферирующих потенциально веществ результаты исследования. на Диагностические чувствительность и специфичность методики качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в заявленных видах биологического материала на основе ПЦР-РВ по сравнению с референтными методами составила 100% (95% ДИ [98,54–100%]) и 100% (95% ДИ [98,78–100%]) соответственно.

Таблица 4.24 – Результаты тестирования образцов контрольной панели с помощью методики качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b в различном биологическом материале на основе ЩР-РВ

Результаты тестирования с помощью	разработанной методики	концентрация ДНК	R.humanbeta6a/b,	\lg копий/ 10^5 клеток	I	1	4,85	1	1	4,91	I	I	1	4,87
Результаты тестир	разработанн	концентрация ДНК	R.humanbeta6a/b,	копий/мл	$4,0x10^5$	I	$3.7x10^4$	5.9×10^4	3.2×10^4	$3,1x10^5$	2,3x10 ⁴	$4,4x10^5$	1	$3,4x10^5$
		концентрация ДНК,	\lg копий/ 10^5 клеток		I	1	4,92	1	1	4,79	I	I	1	4,78
Заданные параметры		концентрация ДНК,	копий/мл		$4,5x10^5$	I	5.8×10^4	$7.2x10^4$	$3,4x10^4$	$2,6x10^5$	2,9x10 ⁴	$4,0x10^5$	I	$2.9x10^5$
		Вид	микроорганизма		R.humanbeta6a	отрицательный	R.humanbeta6b	R.humanbeta6b	R.humanbeta6a	R.humanbeta6b	R.humanbeta6a	R.humanbeta6a	отрицательный	R.humanbeta6b
Вид биологического	материала				плазма венозной крови	моча	цельная венозная кровь	плазма венозной крови	Моча	цельная венозная кровь	мазок со слизистой оболочки ротоглотки	моча	плазма венозной крови	цельная венозная кровь
Š	п/п				1	2	3	4	5	9	7	∞	6	10

Высокие диагностические характеристики подтверждены при апробации разработанной методики на панели контрольных образцов (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Разработанная методика качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале на основе ПЦР-РВ может являться базисом для создания набора реагентов для лабораторной диагностики инфекций, вызываемых *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* у пациентов различного возраста, в том числе при установлении окончательного диагноза и в рамках проведения дифференциальной диагностики герпесвирусных инфекций.

4.4 Валидация методики количественного определения ДНК *Cytomegalovirus humanbeta5* на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационнофлуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

Разработанный в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора набор реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года) предназначен для выявления и количественного определения ДНК *C.humanbeta5*, экстрагированной из различного биологического материала (цельная венозная, пуповинная кровь; лейкоциты венозной, пуповинной крови; плазма венозной, пуповинной крови; амниотическая жидкость; спинномозговая жидкость; слюна; смыв и мазок со слизистой оболочки бронхоальвеолярная ротоглотки; моча; лаважная жидкость; тканевой (биопсийный) материал внутренних органов), методом ПЦР-РВ. Данный набор реагентов создан для проведения полного ПЦР-исследования, включающего экстракцию ДНК из биологического материала и амплификацию ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией результатов анализа в режиме качественном и количественном реального времени в форматах. ПЦРисследование осуществляется в присутствии экзогенного и эндогенного ВКО, эффективность позволяющих оценить выполнения преаналитического

аналитического этапов анализа. Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиСенс® СМV-скрин/монитор-FL» при использовании для экстракции ДНК комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБОпреп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года) представлена в таблице 4.25.

Таблица 4.25 — Аналитическая чувствительность набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL»

Вид биологического материала	Аналитическая
	чувствительность
Плазма венозной, пуповинной крови; амниотическая жидкость;	400 копий ДНК
спинномозговая жидкость; слюна; смыв и мазок со слизистой	C.humanbeta5/мл
оболочки ротоглотки; моча; бронхоальвеолярная лаважная жидкость	
Цельная венозная, пуповинная кровь; лейкоциты венозной,	5 копий ДНК
пуповинной крови; тканевой (биопсийный) материал внутренних	C.humanbeta5/10 ⁵
органов	клеток

Параметры аналитической чувствительности и интерпретация результатов ПЦР-исследования разнятся в зависимости от вида биологического материала. $5x10^2 - 1x10^7$ Линейный диапазон измерения составляет копий ДНК C.humanbeta5/мл. Специфическая активность набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» доказана при исследовании референсного штамма *C.humanbeta5* AD169 [245], а также образцов различного биологического материала с последующим подтверждением результатов тестирования методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру). Показано отсутствие активности компонентов набора в отношении геномной ДНК человека и ДНК различных микроорганизмов, в том числе 7 видов вирусов герпеса семейству Orthoherpesviridae (L.humangamma4, относящихся К человека,

R.humangamma8, R.humanbeta6a, R.humanbeta6b, R.humanbeta7, S.humanalpha1, S.humanalpha2, V.humanalpha3) в 100% случаев.

Анализируя данные, представленные в научной литературе и современных клинических руководствах, для проведения валидации в качестве эталона выбран международный стандарт BO3 (1st WHO International Standard for Human cytomegalovirus for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code 09/162, version 3.0, 30/11/2010, Великобритания) [246], приготовленный из полногеномной ДНК C.humanbeta5 штамм Merlin [247]. На основании генетического анализа структуры гликопротеина В гена UL55 установлено, что данный штамм *C.humanbeta5* относится к генотипу 1 [248]. Геном *C.humanbeta5* штамм Merlin хорошо изучен по сравнению с другими известными лабораторными штаммами и полностью секвенирован (GenBank: AY446894) [249]. Данный международный стандарт ВОЗ представлял собой лиофилизированный образец ДНК C.humanbeta5 концентрацией 5,0х106 МЕ/мл, разведенный в универсальном буфере, содержащим Tris-HCl и человеческий сывороточный альбумин, и оптимально подходил для проведения валидации полного ПЦР-исследования при тестировании различного биологического материала (цельная венозная кровь, плазма венозной крови и т.д.) [250,251].

Для проведения сравнительных измерений использовали СОП ДНК C.humanbeta5 («COП ДНК *СМV* №57» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) – стабилизированный по физико-химическим свойствам образец рекомбинантной ДНК *C.humanbeta5*, разведенный в буфере, содержащим Tris-HCl и Na_2 -ЭДТА, с концентрацией $1,06x10^6$ копий/мл. Экстракцию ДНК из исследуемых образцов проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). В ходе валидации осуществляли три серии независимых экспериментов В одинаковых условиях. В каждой экспериментов проводили параллельные пятикратные разведения международного стандарта ВОЗ и СОП ДНК C.humanbeta5 в диапазоне концентраций от 10^6 до 10^2

МЕ/мл. В качестве дилюента использовали деионизированную стерильную воду, плазму цельной крови доноров крови с отрицательными результатами выявления ДНК *C.humanbeta5*, а также вирусоспецифических AT-IgM, AT-IgG.

Программа амплификации, использованная при проведении валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» относительно международного стандарта ВОЗ представлена в таблице 4.26.

Таблица 4.26 — Программа амплификации, использованная при проведении валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» относительно международного стандарта ВОЗ

Цикл	Температура, °С	Продолжительность	Количество циклов
1	95	15 мин	1
	95	5 c	
2	60	20 c	5
	72	15 c	
	95	5 c	
		20 c	
3	60	детекция флуоресцентного сигнала для	40
		флуорофоров FAM, JOE/HEX, ROX	
	72	15 c	

Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года), в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» относительно международного стандарта ВОЗ представлены в таблице 4.27.

Таблица 4.27 — Результаты измерений концентрации ДНК *C.humanbeta5* серий пятикратных разведений международного стандарта ВОЗ и СОП, полученные при проведении валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» относительно международного стандарта ВОЗ

Меж	сдународн	ый ста	андарт ВО	3		(соп д	HK C.hum	anbeta.	5	
Наиме-	Заданн	гая	Получен	ная	Наиме-	Заданн	ая	Получен	ная	Расче	тная
нование	концентр	ация	концентр	ация	нование	концентр	ация	концентр	ация	концентра	ация ДНК
образца	днк		днк		образца	днк		днк		относи	тельно
										стандар	та ВОЗ
	МЕ/мл	1g	копии/мл	1g		копии/мл	1g	копии/мл	1g	копии/мл	1g
				Пер	вая серия	эксперим	ентов				
R0	5,0E+06	6,70	3,3E+06	6,52	A0	1,1E+06	6,03	2,1E+06	6,33	2,9E+06	6,46
R1	1,0E+06	6,00	7,3E+05	5,87	A1	2,1E+05	5,33	3,7E+05	5,56	2,5E+06	6,39
R2	2,0E+05	5,30	1,6E+05	5,22	A2	4,2E+04	4,63	6,7E+04	4,83	2,2E+06	6,34
R3	4,0E+04	4,60	3,9E+04	4,59	A3	8,5E+03	3,93	1,4E+04	4,15	2,3E+06	6,36
R4	8,0E+03	3,90	5,7E+03	3,76	A4	1,7E+03	3,23	3,0E+03	3,47	2,4E+06	6,38
R5	1,6E+03	3,21	1,1E+03	3,05	A 5	3,4E+02	2,53	4,6E+02	2,66	1,9E+06	6,27
				Вто	рая серия	экспериме	нтов				
R0	5,0E+06	6,70	3,5E+06	6,55	A0	1,1E+06	6,03	1,2E+06	6,07	1,5E+06	6,18
R1	1,0E+06	6,00	7,0E+05	5,84	A1	2,1E+05	5,33	2,7E+05	5,43	1,7E+06	6,24
R2	2,0E+05	5,30	2,0E+05	5,29	A2	4,2E+04	4,63	6,8E+04	4,83	2,2E+06	6,35
R3	4,0E+04	4,60	3,6E+04	4,55	A3	8,5E+03	3,93	1,5E+04	4,18	2,6E+06	6,41
R4	8,0E+03	3,90	5,8E+03	3,76	A4	1,7E+03	3,23	3,1E+03	3,49	2,7E+06	6,43
R5	1,6E+03	3,21	9,6E+02	2,98	A 5	3,4E+02	2,53	5,6E+02	2,57	2,5E+06	6,40
				Тре	тья серия	экспериме	нтов				
R0	5,0E+06	6,70	3,0E+06	6,48	A0	1,1E+06	6,03	1,2E+06	6,07	1,7E+06	6,23
R1	1,0E+06	6,00	7,1E+05	5,85	A1	2,1E+05	5,33	2,8E+05	5,45	1,9E+06	6,28
R2	2,0E+05	5,30	1,7E+05	5,22	A2	4,2E+04	4,63	6,7E+04	4,82	2,1E+06	6,33
R3	4,0E+04	4,60	3,3E+04	4,51	A3	8,5E+03	3,93	1,6E+04	4,20	2,4E+06	6,38
R4	8,0E+03	3,90	6,9E+03	3,84	A4	1,7E+03	3,23	2,4E+03	3,39	1,7E+06	6,23
R5	1,6E+03	3,21	1,4E+03	3,14	A 5	3,4E+02	2,53	4,1E+02	2,61	1,3E+06	6,12

Оценка характера распределения средних величин концентрации ДНК *С.humanbeta5* международного стандарта ВОЗ и СОП относительно заданных и расчетных параметров, показала, что значения, полученные при проведении трех серий параллельных последовательных пятикратных разведений в диапазоне от 10^6 до 10^2 распределены нормально (рисунок 4.5).

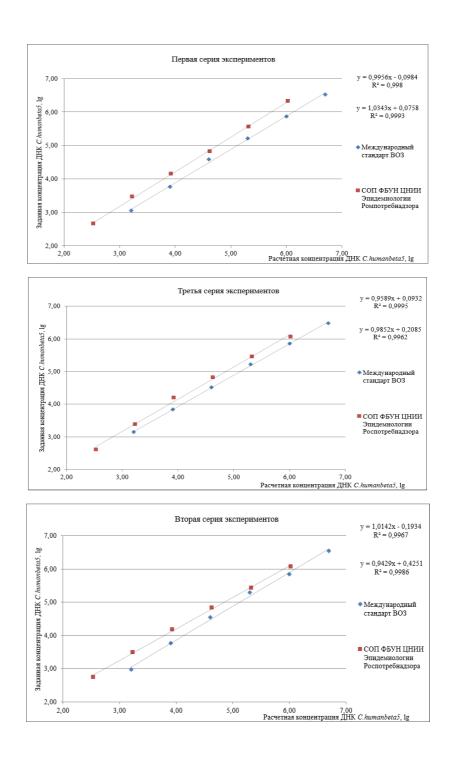


Рисунок 4.5 — Корреляция значений концентрации ДНК *C.humanbeta5* серий пятикратных разведений международного стандарта ВОЗ и СОП, полученных при проведении валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL»

Коэффициент корреляция (R^2) для всех проведенных измерений составил не менее 0,99. Оценочный коэффициент разведений образцов (Δk), характеризующий параллельность проведенного титрования и величина которого не должна превышать 0,05 единиц, для первой серии экспериментов составил 0,001, второй серии – 0,002, третьей – 0,003.

На основании статистического анализа полученных данных определены величины основных характеристик – среднего значения и стандартного отклонения – для СОП ДНК *С.humanbeta5* в каждой серии экспериментов (таблица 4.28). Средняя концентрация СОП ДНК *С.humanbeta5* по результатам всех измерений составила 6,32 lg копий/мл (s=0,06) или 2,1х10⁶ МЕ/мл (таблица 4.28).

Таблица 4.28 — Основные характеристики СОП ДНК *С.humanbeta5*, полученные при проведении валидации набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» относительно международного стандарта ВОЗ

Серия	Расчетная концентраці	ия ДНК C.humanbeta5	s*
экспериментов	относительно стандар	ота ВОЗ (среднее, М)	
	lg ME/мл	МЕ/мл	
Первая	6,37	2,3E+06	0,06
Вторая	6,33	2,2E+06	0,10
Третья	6,26	1,8E+06	0,09
Среднее (М)	6,32	2,1E+06	0,06
Примеча	н и е – *стандартное отклон	ение	

По результатам валидации набора реагентов «АмплиСенс® СМV-скрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года) относительно международного стандарта ВОЗ (1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification techniques NIBSC code 09/162, version 3.0, 30/11/2010, Великобритания установлен коэффициент пересчета определяемой концентрации ДНК *С.humanbeta5* из копии/мл в МЕ/мл равный 0,5.

Таким образом, в результате проведенных научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ созданы три методики и валидирована одна методика, предназначенные для определения нуклеиновых кислот основных возбудителей инфекций ToRCH-группы (ДНК T.gondii, РНК R.rubellae, C.humanbeta5) и рассматриваемых кандидатов включения ДЛЯ возбудителей инфекций ToRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух семейства Orthoherpesviridae, представителей патогенных ДЛЯ R.humanbeta6a и R.humanbeta6b) в качественном, качественном и количественном форматах в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Материалом для проведения исследования служат пробы нуклеиновых кислот, экстрагированные из различного исследуемого биологического материала. Разработанные методики обладают необходимыми высокими аналитическими и характеристиками, подтвержденными диагностическими при апробации. Предусмотрена возможность их параллельного применения в составе единого комплекса с использованием одной приборной базы и единой программы амплификации. Созданные три методики качественного определения ДНК T.gondii, РНК R.rubellae, качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, явились базисом для разработки наборов реагентов на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ для лабораторной диагностики токсоплазмоза; краснухи; инфекции, вызванной ВГЧ-6а/b, у пациентов различного возраста, в том числе при установлении окончательного диагноза и в рамках проведения дифференциальной диагностики.

Наборы реагентов с коммерческими названиями «АмплиСенс® Тохорlаsma gondii-FL», «АмплиСенс® Rubella virus-FL», «АмплиСенс® ННV6-скрин-титр-FL» внедрены в производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, успешно прошли технические, клинические испытания и зарегистрированы в установленном порядке в Российской Федерации и за рубежом. На набор реагентов для выявления ДНК *Т.gondii* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Toxoplasma gondii-FL» по ТУ 9398-081-01897593-2009 получено РУ

№ ФСР 2009/06190 от 05 марта 2019 года. На набор реагентов для выявления РНК вируса краснухи (*R.rubellae*) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Rubella virus-FL» по ТУ 9398-090-01897593-2009 получено РУ № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года. На набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса 6 типа (ННV6) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационнофлуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ННV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 получено РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года.

«АмплиСенс® CMV-Проведенная валидация набора реагентов скрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года), предназначенного для выявления и количественного определения ДНК *C.humanbeta5* в биологическом материале методом ПЦР-РВ, относительно BO₃ результаты международного стандарта позволяет сопоставлять количественного определения ДНК искомого возбудителя, полученные различными клинико-диагностическими научными лабораториями, И следовательно, оценивать динамику развития инфекционного эффективность проводимой терапии у разных групп пациентов.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ Т₀RCH-ГРУППЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И АЛГОРИТМОВ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

5.1 Оценка эффективности применения методики качественного определения РНК *Rubivirus rubellae* на основе полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией с гибридизационнофлуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени при верификации диагноза В06 Краснуха [немецкая корь]

Для оценки диагностической эффективности выполнены сравнительные иммунохимическое и молекулярно-биологическое исследования, включающие определение вирусоспецифических AT-IgM (качественный формат), AT-IgG (количественный формат) с определением индекса авидности (ИФА) и РНК R.rubellae (ОТ-ПЦР-РВ). В ходе которых, протестировано 868 образцов биологического материала (плазма венозной крови (n=217), сыворотка венозной крови (n=217), слюна (n=217), мазок со слизистой оболочки носо- и ротоглотки (n=217), полученных от 217 человек (123 (56,68%) мужчины и 94 (43,32%) женщины) в возрасте от 14 до 45 лет (М=25 лет), разделенных на 3 группы. Первая группа (основная) – 67 человек с лабораторно подтвержденным диагнозом В06 Краснуха [немецкая корь], среди которых 59 (88,06%) были госпитализированы в состоянии средней тяжести. Продромальный период, характеризовавшийся преимущественно неспецифическими (субфебрильной симптомами или фебрильной лихорадкой, катаральными проявлениями), установлен у 15 (22,39%) больных. У И полилимфаденопатию. всех пациентов отмечали сыпь Продолжительность краснушной экзантемы варьировала от 2 до 7 дней. Энантема зарегистрирована у 12 (17,91%) больных, гиперемия лица выявлена у 5 (7,46%). Лихорадочный синдром и увеличение затылочных лимфатических узлов отмечено у 51 (76,12%) пациента. Катаральные явления присутствовали у 65 (97,02%) больных, увеличение миндалин I, II, III степени – у 14 (20,90%). Артралгию регистрировали у 6 (8,96%) человек. Вторая (группа сравнения 1) – 50 пациентов с B08.3 лабораторно подтвержденными диагнозами B05 Корь, Эритема инфекционная (пятая болезнь), АЗ8 Скарлатина, среди которых 30 (60,0%) человек были госпитализированы в состоянии средней тяжести; третья (группа сравнения 2) – 100 клинически здоровых лиц, условно-здоровых доноров крови и пациентов с соматической патологией при отсутствии клинических проявлений острого инфекционного заболевания. Сбор биологического материала для последующего лабораторного тестирования у больных экзантемными заболеваниями различной этиологии (основная группа и группа сравнения 1) проводили в первый день госпитализации (период разгара заболевания, до 5 дня от момента появления сыпи) на базе боксовых отделений ГБУЗ ИКБ №2 ДЗМ, доноров крови (группа сравнения 2) – однократно на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Иммунохимическое направленное исследование, выявление на вирусоспецифических AT-IgM (качественный формат), AT-IgG (количественный формат) с определением индекса авидности выполняли методом ИФА при помощи наборов реагентов Rubella IgM, Rubella IgG (Diagnostic Systems Laboratories, Inc, США, РУ № ФСЗ № 2010/08699 от 17 декабря 2010 года) и Avidity anti-Rubella virus IgG ELISA (Euroimmun AG, Германия, РУ № ФСЗ № 2009/04988 от 31 августа 2009 года) согласно инструкциям производителей. Постановку ИФА, последующий анализ полученных результатов проводили с использованием автоматического анализатора NexGen Four (Adaltis Italia S.p.A, Италия) и спектрофотометра Anthos Zenyth-340st (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) в соответствии с инструкциями производителей. Идентификацию РНК R.rubellae в образцах плазмы венозной крови, слюны, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки проводили методом ОТ-ПЦР-РВ с использованием набора реагентов для выявления РНК вируса краснухи (R.rubellae) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной

детекцией «АмплиСенс® Rubella virus-FL» по ТУ 9398-090-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года). Экстракцию РНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года), в соответствии с инструкцией производителя.

Для оценки диагностической эффективности определяли следующие показатели: чувствительность (SE), специфичность (SP), предсказательная ценность положительного результата (PPV), предсказательная ценность отрицательного результата (NPV), диагностическая эффективность теста (точность) (ACC), индекс Юдена (J), сводный прогнозный индекс (PSI).

Результаты сравнительного исследования иммунохимических (ИФА) и молекулярно-биологических (ОТ-ПЦР-РВ) тестирований представлены в таблице 5.1.

Из таблицы 5.1 следует, что у пациентов основной группы в период разгара заболевания (до 5 дня от момента появления сыпи) специфические AT-IgM и AT-IgG с низким индексом авидности к АГ вируса краснухи в образцах сыворотки венозной крови обнаружили в 47,76 и 29,85% случаев соответственно. При этом концентрация вирусоспецифических AT-IgG варьировала от 4,1 до 109 МЕ/мл (*Me*=17,15 МЕ/мл), индекс авидности – от 2,81 до 18,9% (*Me*=6,18%). РНК *R.rubellae* выявили в образцах плазмы венозной крови, слюны, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки больных данной группы в 20,90, 92,54 и 70,15% случаев соответственно.

Таблица 5.1 – Результаты выявления лабораторных маркеров краснухи с использованием иммунохимического (ИФА) и молекулярно-биологического (ОТ-ПЦР-РВ) методов в исследуемых группах

Аналит, вид биологического	Ŏ	Основная группа (n=67)	уппа (п=6	7)	Гру	Группы сравнения (n=150)	ения (n=1	50)	d	χ^2
материала, метод исследования	положи	положительный	отрицал	отрицательный	положи	положительный	отрица	отрицательный		
	peayı	результат	peay	результат	peayı	результат	pe3y.	результат		
	a6c.	%	абс.	%	абс.	%	a6c.	%		
Вирусоспецифические AT-IgM,	32	47,76	35	52,24	2	1,33	148	79,86	<0,001*	75,55
сыворотка венозной крови, ИФА										
Вирусоспецифические	20	29,85	47	70,15	0	0	150	100	<0,001*	49,32
низкоавидные AT-IgG, сыворотка										
венозной крови, ИФА										
Вирусоспецифические	0	0	29	100	123	82,0	27	18	<0,001*	126,83
высокоавидные AT-IgG,										
сыворотка венозной крови, ИФА										
PHK R.rubellae, плазма венозной	14	20,90	53	79,10	0	0	150	100	<0,001*	33,51
крови, ОТ-ПЦР-РВ										
РНК R.rubellae, слюна, ОТ-ПЦР-	62	92,54	5	7,46	0	0	150	100	<0,001*	194,33
PB										

Продолжение таблицы 5.1

Аналит, вид биологического	0	Основная группа (n=67)	уппа (n=6	(7)	Гру	Группы сравнения (n=150)	I=II (n=1	50)	d	χ^2
материала, метод исследования	положи	положительный	отрицал	отрицательный	положительный	ельный	отрицал	отрицательный		
	peayı	результат	pe3y.	результат	результат	ьтат	pe3y.	результат		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
PHK R.rubellae, мазок со	47	70,15	20	29,85	0	0	150	100	<0,001*	134,32
слизистой оболочки носо- и										
ротоглотки, ОТ-ШЦР-РВ										
РНК R.rubellae, слюна и мазок со	65	97,02	2	2,98	0	0	150	100	<0,001*	207,75
слизистой оболочки носо- и										
ротоглотки, ОТ-ШЦР-РВ										
Π р и м е ч а н и е – * – различия показателей считались статистически значимыми при $p<0,05$	чия показа	телей счи	гались ста	тистически	і значимы)> <i>d</i> иdп им	2,05			

При одномоментном параллельном тестировании образцов слюны и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки эффективность выявления РНК вируса возрастала и составила 97,02%. У пациентов групп сравнения (1 и 2) в образцах сыворотки венозной крови из специфических маркеров краснушной инфекции выявили вирусоспецифические высокоавидные AT-IgG в 82,0% случаев, что свидетельствовало о ранее перенесенной инфекции или проведенной вакцинации против краснухи, и AT-IgM в 1,33% случаев, что расценено, как неспецифическая реакция (ложноположительный результат), обусловленная перекрестной реакцией к АГ Morbillivirus hominis. Вирусоспецифические низкоавидные AT-IgG, РНК R.rubellae в заявленных образцах биологического материала не обнаружили.

Исходя из анализа полученных результатов определены следующие показатели диагностической эффективности применения методики качественного определения РНК *R.rubellae* на основе ОТ-ПЦР-РВ при верификации диагноза В06 Краснуха [немецкая корь] у пациентов в период разгара заболевания (до 5 дня от момента появления сыпи): диагностическая специфичность — 100% (95% ДИ [94,58–100%]), диагностическая чувствительность — варьирует от 20,90 до 97,02% в зависимости от вида исследуемого материала (при тестировании образцов плазмы венозной крови — 20,90% (95% ДИ [12,88–32,07%]), слюны — 92,54% (95% ДИ [83,69–96,77%]), мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки — 70,15% (95% ДИ [58,35–79,77%]), слюны и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки — 97,02% (95% ДИ [89,75–99,18%]).

В целом, анализ результатов исследования свидетельствует о том, что применение разработанной методики, предназначенной для качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале (плазма венозной крови, слюна, мазок со слизистой оболочки носо- и ротоглотки) методом ОТ-ПЦР-РВ позволяет в короткие сроки при однократном тестировании лабораторно верифицировать диагноз В06 Краснуха [немецкая корь] в первые дни заболевания. Так, при проведении обследования в первые 5 дней с момента появления сыпи специфические лабораторные маркеры краснухи (вирусоспецифические АТ-IgM и/или IgG с низким индексом авидности) в

образцах сыворотки венозной крови с помощью метода ИФА обнаружили лишь у 36~(53,73%,~95%~ДИ~[41,92–65,14%]) пациентов, тогда как РНК вируса при тестировании двух видов биологического материала (слюны и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки) определили у 65~(97,02%,~95%~ДИ~[89,75–99,18%]) (p<0,001). Сравнительная оценка показателей диагностической эффективности медицинских технологий представлена в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Сравнительная оценка показателей диагностической эффективности медицинских технологий

Медицинская	Аналит, вид			По	казател	Ь		
технология	биологического	SE,	SP,	PPV,	NPV,	ACC,	J	PSI
	материала, метод	%	%	%	%	%		
	исследования							
Разработанная	РНК <i>R.rubellae</i> , слюна	97,02	100	100	98,68	99,08	0,97	0,99
методика	и мазок со слизистой							
	оболочки носо- и							
	ротоглотки, ОТ-ПЦР-							
	PB							
ИФА-тест	вирусоспецифические	53,73	98,67	94,74	82,68	84,79	0,52	0,77
	AT-IgM и							
	низкоавидные AT-IgG,							
	сыворотка венозной							
	крови, ИФА							

 Π р и м е ч а н и е – SE – чувствительность, SP – специфичность, PPV – предсказательная ценность положительного результата, NPV – предсказательная ценность отрицательного результата, ACC – диагностическая эффективность теста (точность), J – индекс Юдена, PSI – сводный прогнозный индекс

Анализ полученных показателей подтвердил диагностическое преимущество разработанной методики по отношению к ИФА-тесту. Диагностическая эффективность теста (точность) разработанной методики составила 99,08% при

величине индекса Юдена и сводном прогнозном индексе равным 0,97 и 0,99. В тоже время для И Φ А-теста те же показатели — 84,79%, 0,52 и 0,77 соответственно. В большинстве случаев ложноотрицательные результаты ИФА-тестирования обусловлены особенностями развития гуморального иммунитета при краснушной инфекции, а также низкой аналитической чувствительностью используемых ИФАтестов. При этом по данным экспертов ВОЗ ИФА-тесты, предназначенные для выявления специфических AT-IgM к AГ R.rubellae, наиболее чувствительны в период с 4 по 28 день с момента появления сыпи [95]. Использование образцов сыворотки крови, собранных в более ранние вроки (до 3 дня с момента появления ИФА-тестирования приводит К получению недостоверных (ложноотрицательных) результатов [252].

Таким образом, применение разработанной методики, предназначенной для качественного определения РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале (плазма венозной крови, слюна, мазок со слизистой оболочки носо- и ротоглотки) методом ОТ-ПЦР-РВ позволит повысить эффективность диагностики краснухи на ранних этапах развития инфекционного процесса, своевременно и качественно проводить дифференциальную диагностику экзантемных заболеваний, обосновать тактику противоэпидемического режима. Наибольшая информативность при исследовании образцов слюны (диагностическая специфичность — 100% (95% ДИ [94,58–100%]), диагностическая чувствительность — 92,54% (95% ДИ [83,69–96,77%])), по сравнению с образцами плазмы венозной крови, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, отсутствие инвазивных медицинских манипуляций и простата взятия данного биологического материала, позволяют рекомендовать именно слюну как оптимальный биологический материал для выявления РНК *R.rubellae* методом ОТ-ПЦР-РВ, с целью подтверждения клинического диагноза В06 Краснуха [немецкая корь] в ранние сроки заболевания.

- 5.2 Возможности интеграции диагностических технологий на основе разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ToRCH-группы
 - 5.2.1 Интеграция методики качественного определения РНК *Rubivirus rubellae* на основе полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени в алгоритмы диагностики краснухи у беременных и новорожденных

В рамках изучения возможности интеграции методики качественного определения РНК R.rubellae на основе ОТ-ПЦР-РВ в алгоритмы диагностики краснухи у беременных и ВКИ/СВК у новорожденных проведена научноисследовательская работа. В изыскание включено 162 беременных в возрасте от 19 до 46 лет (M=31,61 лет, Me=31 года) на сроке беременности от 9 до 30 недель (M=19,74) недель, Me=21 неделя) с неизвестным вакцинальным анамнезом, проходивших скрининговое обследование на специфические маркеры краснухи. Клиническое, инструментальное обследование беременных, новорожденных; сбор биологического материала осуществляли на базе ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ФБУН ДЗМ», лабораторное исследование ПНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Скрининговое и динамическое (по показаниям) лабораторное обследование проводили с помощью иммунохимического метода (ИФА) с выявлением специфических AT-IgM (качественный формат) (количественный формат) к АГ вируса краснухи в образцах сыворотки/плазмы венозной крови при помощи наборов реагентов Rubella IgM, Rubella IgG (Diagnostic Systems Laboratories, Inc, США, РУ № ФСЗ № 2010/08699 от 17 декабря 2010 года) в соответствии с инструкциями производителя. При выявлении у беременных вирусоспецифических AT-IgM и AT-IgG в увеличивающейся концентрации (2-4 раза) для оценки риска инфицирования плода проводили тестирование образцов амниотической жидкости, плазмы пуповинной крови с помощью молекулярно-

биологического метода (ОТ-ПЦР-РВ). При проведении дифференциальной лабораторной диагностики образцы сыворотки венозной крови беременных при наблюдении дополнительно динамическом исследовали на наличие специфических AT-IgM (качественный формат) и AT-IgG (количественный формат) к АГ ЦМВ, *T.gondii* методом ИФА, используя наборы реагентов производства Diagnostic Systems Laboratories, Inc (США) и Bio Merieux (Франция) в соответствии с инструкциями производителей. Постановку ИФА, последующий анализ полученных результатов проводили с использованием автоматического анализатора NexGen Four (Adaltis Italia S.p.A, Италия) и спектрофотометра Anthos Zenyth-340st (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) в соответствии с инструкциями производителей.

Для своевременного обнаружения патологических изменений в системе «мать – плацента – плод», обусловленных развитием ВУИ, проводили УЗИ, допплерометрию, кардиотокографию, амниоцентез, кордоцентез согласно стандартным методикам.

Клиническое состояние новорожденных оценивали по шкале Апгар через 1 и 5 мин. после рождения. Лабораторную верификацию ВКИ у новорожденных осуществляли В первые трое суток жизни посредством выявления вирусоспецифических AT-IgM (качественный формат) образцах сыворотки/плазмы венозной крови, а также идентификации РНК вируса краснухи в образцах плазмы венозной крови и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки методом ОТ-ПЦР-РВ.

Определение РНК *R.rubellae* в обозначенных выше образцах биологического материала проводили методом ОТ-ПЦР-РВ с использованием набора реагентов для выявления РНК вируса краснухи в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Rubella virus-FL» по ТУ 9398-090-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года) в соответствии с инструкцией производителя. Экстракцию РНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из

клинического материала производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года) в соответствии с инструкцией производителя.

В результате проведенных лабораторных исследований специфические АТ-IgG к АГ вируса краснухи в образцах сыворотки венозной крови обнаружили у 128 (79,01%; 95% ДИ [72,11–84,57%]) беременных, обследованных на первичном приеме. Концентрация вирусоспецифических АТ-IgG варьировала от 10 до 426 МЕ/мл (Me=103 МЕ/мл). Сомнительные результаты (концентрация 5–10 МЕ/мл) получены у 5 женщин (3,09%; 95% ДИ [1,33–7,02%]). У 29 (17,9%; 95% ДИ [12,76–24,53%]) пациенток специфические АТ-IgG к АГ R.rubellae не выявлены. Вирусоспецифические АТ-IgM обнаружены у 3 (1,85%; 95% ДИ [0,63–5,30%]) беременных (рисунок 5.1).

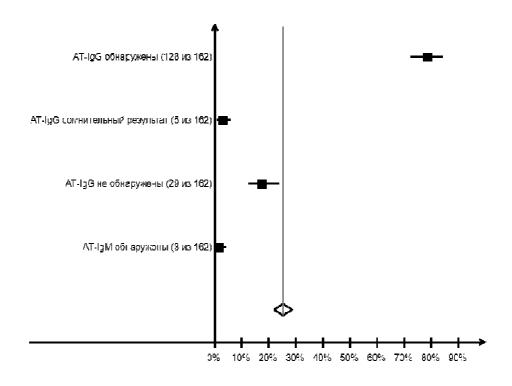
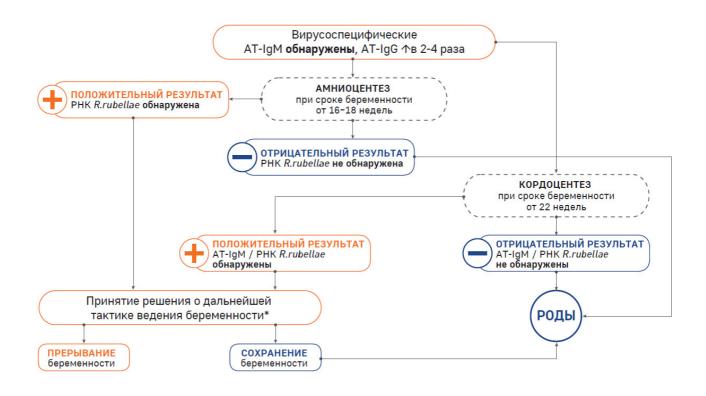


Рисунок 5.1 – Частота обнаружения специфических лабораторных маркеров краснухи методом ИФА у беременных (n=162), %

В результате проведенных ИФА-тестов AT-IgM наряду с увеличением концентрации AT-IgG к AГ вируса краснухи выявлены у двух беременных с клиническим диагнозом В06 Краснуха [немецкая корь] и у одной с подозрением на В06 Краснуха [немецкая корь]. Дальнейшее лабораторное обследование беременных проведено согласно алгоритму, представленному на рисунке 5.2.



 Π р и м е ч а н и е — *Беременную предупреждают о наличии риска врожденной патологии плода. Решение о прерывании беременности женщина принимает самостоятельно

Рисунок 5.2 – Алгоритм лабораторной диагностики краснухи во время беременности

В первом случае обследована беременная в возрасте 31 года, срок беременности 20–21 недели, клинический диагноз В06 Краснуха [немецкая корь]. При УЗИ, допплерометрии, кардиотокографии патологических изменений у плода, в плаценте, а также маточно-плацентарного-плодового кровотока не выявлено. При лабораторном обследовании к АГ вируса краснухи: специфические AT-IgM —

сомнительный результат, AT-IgG – 220 ME/мл; к AГ *T.gondii* IgM – не обнаружены, AT-IgG – 109 ME/мл; к AГ ЦМВ: AT-IgM – не обнаружены, AT-IgG – 38 ME/мл. Повторное лабораторное обследование проведено через 14 дней, при этом результаты иммунохимических тестов были следующими: к АГ вируса краснухи специфические AT-IgM – сомнительно, AT-IgG – 296 ME/мл; к *T.gondii* – AT-IgM не выявлены, AT-IgG - 175 ME/мл; к ЦМВ – AT-IgM не обнаружены, AT-IgG - 22МЕ/мл. Известно, что при лабораторной диагностике первичное инфицирование устанавливается на основании обнаружения вирусоспецифических AT-IgM, существенного (≥4 раза) увеличения сероконверсии или концентрации вирусоспецифических AT-IgG. Однако при этом следует учитывать, что специфические AT-IgM к AГ вируса краснухи, появляющиеся в крови в период появления сыпи, могут в дальнейшем обнаруживаться в течение длительного времени, особенно после вакцинации. Если при определении концентрации вирусоспецифических AT-IgG в двух последовательно взятых образцах сыворотки периферической крови показатели существенно не изменяются, предположить исключение первичного инфицирования [114]. Для подтверждения или исключения факта инфицирования плода, развитии ВУИ принято решение о проведении амниоцентеза. Образец амниотической жидкости необходим для проведения подтверждающего теста, направленного на прямое выявление РНК возбудителя методом ОТ-ПЦР-РВ. Следует подчеркнуть, что идентификация РНК вируса краснухи в образцах амниотической жидкости и/или пуповинной крови ОТ-ПЦР-РВ является достоверным методом маркером антенатального инфицирования. Однако, выполнение кордоцентеза методологически оправдано только после 22 недели гестации [63].

В результате проведенных молекулярно-биологических тестов РНК вируса краснухи в образце амниотической жидкости не обнаружена. Ребенок родился живым, доношенным, вес 3250 г, длина тела 52 см, оценка по шкале Апгар 8/8 баллов. При клиническом осмотре новорожденного патологии не выявлено. На второй день жизни у новорожденного для лабораторного исключения ВКИ были взяты образцы венозной крови и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки.

При проведении лабораторного исследования вирусоспецифические AT-IgM не выявлены, концентрация AT-IgG составила 260 МЕ/мл. При тестировании образцов плазмы венозной крови, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки новорожденного методом ОТ-ПЦР-РВ с помощью разработанной методики РНК вируса краснухи не обнаружена.

Во втором случае обследована беременная в возрасте 25 лет, срок беременности 22 недели с подозрением на В06 Краснуха [немецкая корь]. При проведении лабораторных исследований с использованием иммунохимического метода: к вирусу краснухи AT-IgM – обнаружено, IgG – 74 МЕ/мл; к *T.gondii* и ЦМВ IgM – не обнаружены, IgG – 107 МЕ/мл и 40 МЕ/мл соответственно. При повторном лабораторном исследовании сыворотки венозной крови (через 14 дней): к АГ вируса краснухи АТ-IgM – обнаружено, IgG – концентрация АТ достоверно увеличилась в 3,4 раза и составила 252 МЕ/мл; к *T.gondii* AT-IgM – не обнаружены, AT-IgG – 83 МЕ/мл; к ЦМВ AT-IgM – не обнаружены, AT-IgG – 17 МЕ/мл. При УЗИ, допплерометрии, кардиотокографии патологических изменений у плода, в плаценте, а также маточно-плацентарного-плодового кровотока не выявлено. Учитывая, что в ряде случаев сероконверсия или существенное увеличение концентрации вирусоспецифических AT-IgG может означать как недавнее первичное инфицирование, так и указывать на повторное инфицирование или неспецифическую стимуляцию иммунной системы, для подтверждения или исключения факта трансплацентарной передачи вируса краснухи плоду проведена кордоцентеза. Полученный образец процедура пуповинной крови протестирован на наличие вирусоспецифических AT-IgM и PHK возбудителя. Вирусоспецифические AT-IgM, РНК инфекционного агента в образце плазмы пуповинной крови ни в эти сроки не обнаружены. Ребенок родился живым, доношенным, вес 2950 г, длина тела 47 см, оценка по шкале $A \pi r a p - 8/9$ баллов. При клиническом осмотре новорожденного патологии не выявлено. На третий день жизни у новорожденного для лабораторного исключения ВКИ были взяты образцы венозной крови и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки. При проведении лабораторного исследования вирусоспецифические AT-IgM не выявлены,

концентрация AT-IgG составила 215 ME/мл. При тестировании образцов плазмы венозной крови, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки новорожденного методом ОТ-ПЦР-РВ с помощью разработанной методики РНК вируса краснухи не обнаружена.

Во третьем случае обследована беременная в возрасте в возрасте 25 лет, срок беременности 22 недели, с клиническим диагнозом В06 Краснуха [немецкая корь]. При проведении лабораторных исследований использованием иммунохимического метода: к вирусу краснухи IgM – не обнаружены, IgG – 54 ME/мл; к AГ *T.gondii* специфические AT-IgM и AT-IgG – не выявлены; к АГ ЦМВ специфические AT-IgM – также не обнаружены, AT-IgG – 68 ME/мл. Повторное лабораторное обследование беременной проведено через 14 дней, при котором получены следующие результаты: к АГ вируса краснухи специфические AT-IgM – обнаружено, AT-IgG - 197 МЕ/мл. Сопоставление результатов двукратного иммунохимического исследования методом ИФА показало, что наряду с появлением вирусоспецифических IgM (сероконверсия) имело место увеличение концентрации вирусоспецифических AT-IgG в 3,6 раза. Проведена процедура кордоцентеза для взятия образца пуповинной крови для последующего лабораторного исследования с помощью иммунохимического и молекулярнобиологического методов. В пуповинной крови к АГ вируса краснухи специфических IgM – не выявили, AT-IgG – 68 ME/мл. РНК вируса в образце плазмы пуповинной крови при помощи ОТ-ПЦР-РВ не обнаружена. При проведении УЗИ, допплерометрии, кардиотокографии в динамике патологий плода, плаценты, маточно-плацентарного-плодового кровотока не выявлено. Ребенок родился живым, доношенным, вес 3050 г, длина тела 49 см, оценка по шкале Апгар – 9/9 баллов. При клиническом осмотре новорожденного патологии не выявлено. На второй день жизни у новорожденного для лабораторного исключения ВКИ были взяты образцы венозной крови и мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки. При проведении лабораторного исследования вирусоспецифические AT-IgM не выявлены, концентрация AT-IgG составила 175 МЕ/мл. При тестировании образцов плазмы венозной крови, мазка со слизистой

оболочки носо- и ротоглотки новорожденного методом ОТ-ПЦР-РВ с помощью разработанной методики РНК вируса краснухи не обнаружена.

Согласно результатам анализа данных, полученных при проведении клинико-лабораторных исследований, одном, комплексных ни В ИЗ случаев, был лабораторно представленных не подтвержден факт трансплацентарной передачи вируса краснухи от матери плоду. Очевидно, это объясняется тем, что тяжесть и характер развития ВКИ, СВК в большей мере зависят от того, в какую фазу эмбрио- или фетогенеза произошло заражение. Если в ранние сроки беременности плод инфицируется в 70–90% случаев и в 50–60% случаев развиваются эмбриопатии, приводящие к его гибели и, как следствие к самопроизвольному выкидышу, то во второй половине первого триместра частота эмбриопатий снижается до 25%.

Таким образом, проведенное исследование показало, что 17,9% (29/162; 95%) ДИ [12,76–24,53%]) беременных, наблюдавшихся в ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ» на момент проведения изыскания, не имели защитных АТ (AT-IgG) и были восприимчивы к краснушной инфекции. У 2 из 3 (66,67%) беременных лабораторно подтвержден диагноз В06 Краснуха [немецкая корь] на основании обнаружения вирусоспецифических AT-IgM и увеличения концентрации вирусоспецифических AT-IgG в ~4 раза при исследовании парных сывороток крови. Верификация диагноза В06 Краснуха [немецкая корь] у беременных потребовала проведения дальнейших динамических клинических и лабораторных исследований, целью которых явилось установление факта инфицирования плода и развития ВУИ. Отрицательный результат выявления РНК патогена в амниотической жидкости и пуповинной крови у беременных с краснухой, полученный при использовании разработанной нами методики качественного определения PHK R.rubellae на основе ОТ-ПЦР-РВ, являлся в 100% случаев достоверным маркером отсутствия факта инфицирования плода и развития ВУИ. Представленные три клинические примера дополнительно иллюстрируют диагностическое преимущество использования методики качественного определения РНК R.rubellae на основе ОТ-

ПЦР-РВ для пренатальной диагностики ВУИ и верификации ВКИ/СВК у новорожденных.

5.2.2 Интеграция методики качественного определения ДНК *Тохорlasma gondii* на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени в алгоритмы диагностики токсоплазмоза у беременных

В рамках изучения возможности интеграции методики качественного определения ДНК *Т.gondii* на основе ПЦР-РВ в алгоритмы диагностики токсоплазмоза у беременных проведена научно-исследовательская работа совместно с ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ». В изыскание включено 240 беременных в возрасте от 20 до 46 лет (М=31,81 лет, *Me*=32 года) на сроке беременности от 10 до 33 недель (М=18,51 недель, *Me*=20 недель), проходивших скрининговое обследование на специфические маркеры токсоплазмоза. Клиническое, инструментальное обследование беременных, сбор биологического материала осуществляли на базе ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ», лабораторное исследование – ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Скрининговые и динамические исследования осуществляли иммунохимическим методом (ИФА) с выявлением специфических AT-IgM (качественный формат), AT-IgG (количественный формат) и определением индекса авидности к AГ T.gondii в образцах сыворотки/плазмы венозной крови. Для этого использовали наборы реагентов производства Diagnostic Systems Laboratories, Inc (США) и Bio Merieux (Франция) согласно инструкциям производителей.

Идентификацию ДНК возбудителя токсоплазмоза в образцах амниотической жидкости, пуповинной крови, аутопсийного материала (тканевого и спинномозговой жидкости) проводили методом ПЦР-РВ с использованием набора реагентов для выявления ДНК *T.gondii* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной

детекцией «АмплиСенс® Toxoplasma gondii-FL» по ТУ 9398-081-01897593-2009 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/06190 от 05 марта 2019 года) в соответствии с инструкцией производителя. В рамках дифференциальной диагностики проводили определение PHK R.rubellae, ДНК *C.humanbeta5* в тех же видах биологического материала, используя наборы реагентов производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора («АмплиСенс® Rubella virus-FL» по ТУ 9398-090-01897593-2009 (РУ № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года), «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года)) согласно инструкциям производителя. Экстракцию нуклеиновых кислот проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года) в соответствии с инструкцией производителя.

Для своевременного обнаружения патологических изменений в системе «мать – плацента – плод», обусловленных развитием ВУИ, проводили УЗИ, допплерометрию, кардиотокографию, амниоцентез, кордоцентез согласно стандартным методикам.

В результате проведенных лабораторных исследований специфические АТ-IgG к АГ *T.gondii* в образцах сыворотки венозной крови обнаружили у 75 (31,25%; 95% ДИ [25,72-37,37%]) обследованных беременных. 93,33% образцов были с 6.67% Концентрация высоким, индексом авидности. низким вирусоспецифических AT-IgG варьировала от 10 до 420 МЕ/мл (*Me*=46,50 МЕ/мл). У 165 (68,75%; 95% ДИ [62,63–74,28%]) пациенток специфические AT-IgG к AГ возбудителя токсоплазмоза Вирусоспецифические не выявлены. обнаружены у 5 (2,08%; 95% ДИ [0,89–4,78%]) беременных, у одной (0,42%; 95% ДИ [0,07-0,23%]) пациентки получен сомнительный результат (рисунок 5.3). Следует отменить, что ни у одной обследуемых беременных на момент проведения осмотра не было отмечено каких-либо специфических клинических проявлений токсоплазмоза.

В пяти (2,08%) наблюдениях у обследованных женщин в возрасте от 24 до 35 лет и сроками беременности от 18 до 24 недель в образцах сыворотки венозной крови выявлены специфические AT-IgM и низкоавидные AT-IgG (таблица 5.3). Индекс авидности составил от 0,09 до 0,30 (*Ме*=0,14). При исследовании парных сывороток венозной крови сероконверсии или 4-кратного и более увеличения концентрации AT-IgG не зафиксировано. Проведенные в динамике УЗИ, допплерометрия патологий у плода, в плаценте, маточно-плацентарного-плодового кровотока у 4 из 5 обследованных беременных с острым токсоплазмозом не выявили, у одной – при УЗИ зарегистрированы врожденные пороки развития плода (вентрикуломегалия, лейкоэнцефаломаляция).

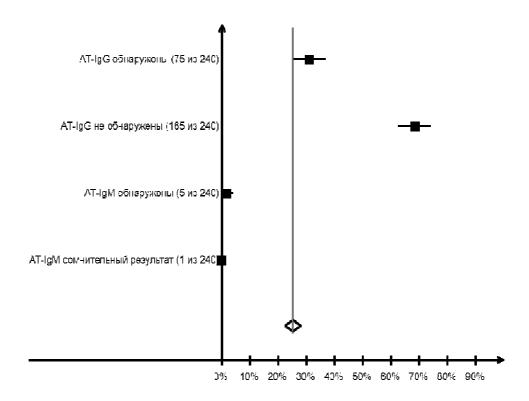


Рисунок 5.3 – Частота обнаружения специфических лабораторных маркеров токсоплазмоза методом ИФА у беременных (n=240), %

Для подтверждения или исключения факта трансплацентарной передачи *T.gondii* плоду и развития ВУИ токсоплазменной этиологии пациенткам проведены процедуры инвазивной пренатальной диагностики: амниоцентеза (Б1–Б5) или кордоцентеза (Б6). Результаты ПЦР-исследования образцов амниотической жидкости и пуповинной крови представлены в таблице 5.3.

Таблица 5.3 – Результаты обследования и исходы беременности

Паци-	Возраст,	Срок		Маркеры токсоплазмоза				
ент	лет	беремен-		матн	,)	ПЛОД	Į	беремен-
		ности,	IgM	IgG,	индекс	инструмен-	ДНК	ности
		неделя		МЕ/мл	авидности	тальные		
						методы		
Б1	33	20–21	+*	118	0,11	б/п	_***	роды
					LOW			
Б2	32	22	+*	189	0,14	б/п	_	роды
					LOW			
Б3	24	18–19	+	200	0,09	б/п	_	роды
					LOW			
Б4	25	24	+	16	0,19	б/п	_	роды
					LOW			
Б5	31	19–20	**	139	0,87	б/п	_	роды
			+/_		HIGH			
Б6	35	22–23	+	800	0,30	ВПРП	+	антенаталь-
					LOW			ная гибель
								плода

 Π р и м е ч а н и е -* – обнаружено, ** – не обнаружено, *** – сомнительный результат, LOW – низкая авидность, HIGH – высокая авиднось, б/п – при проведении динамического наблюдения патологии не выявлено

Из таблицы 5.3 следует, что у беременной Б6 подтвержден факт трансплацентарной передачи возбудителя токсоплазмоза от матери плоду на основании обнаружения ДНК *T.gondii* в образце пуповинной крови. Данные

лабораторных и инструментальных исследований беременной (Бб) в динамике представлены в таблице 5.4. На 30 неделе беременности несмотря на проведение этиотропной терапии произошла антенатальная гибель плода. При аутопсийном исследовании: субтотальная лейкомаляция, антенатальная асфиксия плода. Методом ПЦР-РВ с помощью разработанной нами методики во всех образцах исследуемого биологического материала плода (плацента, головной мозг, печень, селезенка, почка, сердце, легкое, спинномозговая жидкость) обнаружена ДНК *Т.gondii*. Нуклеиновые кислоты других возбудителей ТоRCH-инфекций (краснуха, ЦМВИ) при исследовании образцов амниотической жидкости, пуповинной крови, аутопсийного материала не обнаружены.

Таблица 5.4 – Динамическое наблюдение за беременной с острым токсоплазмозом (Б6)

№ иссле-	Срок	Маркеры токсоплазмоза				
дования	беремен-		мать		плод	
	ности,	IgM	IgG,	индекс	АЗИ	ДНК
	неделя		МЕ/мл	авидности		T.gondii
1	22–23	+*	800	н/и	ВПРП	н/и
2	24–25	+	998,5	0,30	н/и	н/и
				LOW		
3	27–28	+	1168,7	0,34	вес 1100 г,	+
				LOW	ВПРП	
4	30	н/и	н/и	н/и	антенатальная	+
					гибель плода	

 Π р и м е ч а н и е -*- обнаружено, н/и - исследование не проводили, LOW - низкая авидность, ВПРВ - врожденные пороки развития плода,

Обращает на себя внимание, что в одном (0,42%) наблюдении при проведении иммунохимического (ИФА) обследования беременной (Б5) в возрасте 31 года, сроком беременности 19–20 недели в образце сыворотки венозной крови к

 $A\Gamma$ *T.gondii* получены сомнительные результаты обнаружения AT-IgM (<5 ME/мл) дальнейшем, (расцененные в как ложноположительные) в сочетании с высокоавидными AT-IgG в концентрации 139 ME/мл (индекс авидности – 0,87) 5.3). Повторные динамические лабораторные исследования (таблица проводились. При УЗИ, допплерометрии, кардиотокографии патологических изменений у плода, в плаценте, а также маточно-плацентарного-плодового выявлено. В амниотической жидкости ДНК токсоплазмоза, а также нуклеиновых кислот других возбудителей ToRCHинфекций (краснуха, ЦМВИ) не обнаружена. Этиотропной терапии беременная не получала. Роды произошли в срок здоровым плодом.

Таким образом, проведенное исследование показало, что 68,75% (165/240; 95% ДИ [62,63–74,28%] беременных, наблюдавшихся в ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ» на момент проведения изыскания, не имели защитных АТ (AT-IgG) и были восприимчивы к токсоплазмозу. У 5 (2,08%; 95% ДИ [0,89-4,78%]) из 240 беременных обнаружили AT-IgM к AГ *T.gondii* класса. Сомнительные результаты получены у одной (0,42%; 95% ДИ [0,07–0,23%]) женщины. В одном, из описанных случаев, ПО результатам проведенных комплексных исследований использованием доказан факт трансплацентарной передачи *T.gondii* от матери плоду и развитие ВУИ по типу «токсоплазменного сепсиса» с последующей антенатальной гибелью. В четырех других случаях – анализ полученных данных иммунохимического (ИФА) И молекулярно-биологического (ПЦР-РВ) исследований позволяет предположить возможное первичное инвазирование обследованных незадолго до или во время первого триместра беременности, когда инфицирования последующим риск плода \mathbf{c} развитием пренатального токсоплазмоза при первичной инвазии у матери составляет 4–17% [63]. Использование разработанной нами методики качественного определения ДНК T.gondii на основе ПЦР-РВ в составе предложенного комплекса представленных методик позволило в 100% случаев опровергнуть или подтвердить факт трансплацентарной передачи патогена и развития ВУИ. Представленные примеры дополнительно иллюстрируют клинические диагностическое

преимущество использования методики качественного определения ДНК *T.gondii* на основе ПЦР-РВ для пренатальной диагностики ВУИ.

5.2.3 Роль иммунохимических и молекулярно-биологических методов в диагностике цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни с перинатальным поражением центральной нервной системы

При изучении частоты выявления ЦМВИ у детей первого года жизни с поражением ЦНС, уточнения особенностей ее клиникоперинатальным характеристик и обоснования лабораторных необходимости молекулярно-биологических методов (ПЦР) в рамках комплексной диагностики выполнено динамическое обследование 144 детей (81 (56,25%) мальчик и 63 (43,75%) девочки), находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ «НПЦ ДП ДЗМ». Возрастная структура обследуемых: 7 дней-1 месяц -37 (25,69%), 1-3месяца -21 (14,58%), 3-6 месяцев -34 (23,62%), 6-9 месяцев -39 (27,08%), 9-12 месяцев – 13 (9,03%) человек. Обследование включало: динамическое клиническое наблюдение, обшее лабораторное И инструментальное (методы нейровизуализации, УЗИ органов брюшной полости) исследования, динамическое специфическое лабораторное обследование пар «мать – ребенок» с использованием иммунохимических и молекулярно-биологических методов диагностики. Общее исследование, нейросонографию, рентгеновскую лабораторное томографию, магнитно-резонансную томографию, УЗИ органов брюшной полости общепринятыми Иммунохимическое проводили стандартными методами. исследование, направленное на выявление специфических AT-IgM (качественное), AT-IgG (количественное) к AГ ЦМВ с определением индекса авидности в «парных» образцах сыворотки/плазмы венозной крови, взятых с интервалом 14 дней, выполняли методом ИФА с использованием наборов реагентов ВСМ Diagnostics LLC (США); Euroimmun AG (Германия) в соответствии с инструкциями производителей. Постановку ИФА, последующий анализ полученных результатов проводили с использованием автоматического анализатора NexGen Four (Adaltis

Italia S.p.A, Италия) и спектрофотометра Anthos Zenyth-340st (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) в соответствии с инструкциями производителей. Количественное определение ДНК ЦМВ в образцах цельной венозной крови, мазка со слизистой оболочки ротоглотки детей, матерей и мочи детей, взятых двукратно с интервалом 14 дней, выполняли с использованием набора реагентов набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК цитомегаловируса человека (CMV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® CMVскрин/монитор-FL» по ТУ 9398-085-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года) в соответствии с инструкцией производителя. Экстракцию РНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «РИБОпреп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года) в соответствии с инструкцией производителя.

При проведении динамического комплексного клинико-лабораторного обследования 144 пар «мать – ребенок», в которых дети имели перинатальное поражение ЦНС и установленный диагноз или с подозрением на РЗ5.1 Врожденная цитомегаловирусная инфекция, выделено три группы пациентов.

У 23 (15,97%, 95% ДИ [10,89–22,83%]) детей первой группы ДНК ЦМВ выявлена во всех трех обследованных локусах: кровь (100%), отделяемое ротоглотки (мазок со слизистой оболочки ротоглотки) (100%) и моча (100%) в концентрации 1,5–3,87 lg ME/ 10^5 клеток; 8,2х 10^3 –2,1х 10^8 МЕ/мл и 500–1,6х 10^8 МЕ/мл соответственно. Из них специфические АТ-IgM к АГ ЦМВ обнаружены у 8 (34,78%) человек; АТ-IgG: низкоавидные — не выявлены, с пограничным результатом — у 12 (52,17%), высокоавидные — у 11 (47,83%). Концентрация вирусоспецифических АТ-IgG варьировала от 3,2 до 17,2 МЕ. Проведение

специфического лабораторного обследования динамического увеличения AT-IgG концентрации вирусоспецифических ≥4 образцах раз сыворотки/плазмы венозной крови ни у одного (0%) ребенка не выявило. При обследовании матерей детей первой группы: ДНК ЦМВ определены только в образцах мазка со слизистой оболочки ротоглотки у 4 (17,39%) женщин в $1.0 \times 10^{3} - 1.7 \times 10^{4}$ МЕ/мл. Вирусоспецифические AT-IgM концентрации (100%) обследованных AT-IgG - y Bcex обнаружены, высокоавидные (концентрация 2,4–18,0 МЕ/мл).

Обнаружение вирусоспецифических AT-IgM в образцах сыворотки венозной крови (34,78%); ДНК ЦМВ в образцах цельной венозной крови (100%), мазка со слизистой оболочки ротоглотки (100%), мочи (100%) у детей первой группы свидетельствовало об остром инфекционном процессе. Подтверждением активной репликации вируса являлось выявление ДНК ЦМВ в образцах цельной венозной крови, мазка со слизистой оболочки ротоглотки, мочи при определении клинических признаков поражения ЦНС и внутренних органов. При лабораторном подтверждении диагноза РЗ5.1 Врожденная цитомегаловирусная инфекция детям совместно с курсом нейрореабилитации проведена этиотропная противовирусная внутривенные инфузии иммуноглобулина терапия человека антицитомегаловирусного курсом согласно рекомендованным дозировкам. После ее завершения при оценке неврологического статуса у всех (100%) детей выраженности неврологической отмечалось уменьшение симптоматики, эффективность нейрореабилитации повысилась, при лабораторном обследовании в динамике ДНК ЦМВ в образцах цельной венозной крови не выявлялась, образцах мазка со слизистой оболочки ротоглотки и мочи ее концентрация значительно снизилась.

У 16 (11,11%, 95% ДИ [6,95–17,29%]) детей второй группы ДНК ЦМВ не выявлена в образцах венозной крови, но определена в образцах мазка со слизистой оболочки ротоглотки и мочи в концентрации 960–2,0х10⁶ МЕ/мл и 3,0х10⁴–1,7х10⁸ МЕ/мл соответственно. У пациентов второй группы в образцах сыворотки/плазмы венозной крови специфические АТ-IgM к АГ ЦМВ не обнаружены; высокоавидные

AT-IgG – у 11 (68,75%), пограничный результат – у 5 (31,25%). Концентрация вирусоспецифических AT-IgG – 2,0–13,6 ME/мл. При обследовании матерей детей второй группы: ДНК ЦМВ выявлена в образцах мазка со слизистой оболочки только у 1 (6,25%) женщины в концентрации 500 МЕ/мл. Вирусоспецифические AT-IgM не обнаружены, AT-IgG – у всех (100%) – высокоавидные в концентрации 5,8-16,9 МЕ/мл. При проведении динамического специфического лабораторного обследования пар «мать – ребенок» существенных изменений не выявлено. У детей второй группы подтверждена персистенция ЦМВИ на основании обнаружения ДНК ЦМВ в образцах мазка со слизистой оболочки ротоглотки, мочи, вирусоспецифических AT-IgG в сыворотке/плазме венозной крови и определения признаков поражения ЦНС и внутренних органов. Дети данной группы не нуждались в проведении этиотропной противовирусной терапии, так как на момент обследования не подтверждена активная репликации ЦМВ (ДНК-емия не выявлена), но относились к группе риска по реактивации ЦМВИ при снижении функциональной активности иммунитета (например, при интеркуррентных заболеваниях) и нуждались в дальнейшем динамическом наблюдении.

У 105 (72,92%, 95% ДИ [65,13–79,51%]) детей третьей группы ДНК ЦМВ не определена ни в одном из трех исследованных локусов. Вирусоспецифические АТ-IgM не обнаружены; высокоавидные IgG – у 60 (57,14%) из 105 человек (концентрация 1,1–15,8 МЕ/мл). При обследовании матерей детей третьей группы: ДНК ЦМВ в образцах цельной венозной крови и мазка со слизистой оболочки ротоглотки не определена ни в одном (0%) случае. Специфические AT-IgM к AГ ЦМВ не обнаружены, высокоавидные IgG - y 94 (89,52%) (концентрация 1,6-19,8ME/мл). При проведении динамического специфического лабораторного обследования пар «мать – ребенок» существенных клинически значимых изменений не Сопоставление результатов выявлено. иммунохимического обследования показало, что обнаруженные у детей данной группы в образцах венозной крови вирусоспецифические высокоавидные AT-IgG сыворотки материнского происхождения. Дети третьей группы не относились к группе риска

по реализации ЦМВИ на момент проводимого обследования, врожденная ЦМВ у них не подтверждена.

Установлено, что тяжесть неврологической симптоматики, недостаточность эффекта реабилитации до начала проведения этиотропной противовирусной терапии у детей первой группы (15,97%) обусловлена активной репликацией ЦМВ. При этом клиническая картина врожденной ЦМВИ в большинстве случаев была неспецифичной и не сопровождалась признаками острой инфекции. Однако, для детей и первой, и второй групп (27,08%) были характерны сочетанные нарушения функции и/или структуры разных органов и систем. Наибольшую тяжесть представляли поражения ЦНС, которые выявлялись у детей первой группы в виде внутричерепных кровоизлияний (внутрижелудочковые, различных субарахноидальные, паренхиматозные) в 21,74% случаев, энцефалитов и менингитов – 13,04%, гиперкинетического синдрома – 21,74%, снижения слуха – 8,70% и др. У детей второй группы встречались те же изменения, но с меньшей частотой: 18,75%; 12,50%, 6,25%; 6,25% соответственно. Среди поражений внутренних органов доминировало поражение печени и селезенки, выявленное у детей первой группы в виде: длительной и выраженной желтухи в 30,43% случаев, гепатомегалии -39,13%, спленомегалии -17,39%, анемии -39,13%, тромбоцитоза -30,43%. У детей второй группы те же синдромы выявлялись реже в 6,25%, 25,0%, 12,50%, 31,24%, 25,0% случаев соответственно. Получена достоверность различий при сравнительной оценке частоты выявления гиперкинетического синдрома (p=0.012), снижения слуха (p=0.019) у детей с перинатальным поражением ЦНС ЦМВ-этиологии (1 и 2 группы) по сравнению с детьми 3 группы.

Таким образом, у 27,08% (39/144; 95% ДИ [20,49–34,87%]) детей в возрасте до года с перинатальным поражением ЦНС на основании комплексного клиниколабораторного обследования верифицирована врожденная ЦМВИ (среднетяжелая и тяжелая формы). При этом у 15,97% (23/144; 95% ДИ [10,89–22,83%]) обследованных детей тяжесть неврологической симптоматики и отсутствие положительной динамики реабилитационной терапии были обусловлены активностью ЦМВИ. Проведенный анализ клинических симптомов и синдромов

показал, что у детей с перинатальным поражением ЦНС ЦМВ-этиологии достоверно чаще выявляли гиперкинетический синдром (p=0.012), снижение слуха (p=0,019), длительную и выраженную желтуху (p=0,007), изменения в гемограмме (анемия, тромбоцитоз) (p=0.008). При подозрении на ЦМВИ у детей первого года жизни необходимо проводить комплексное клинико-лабораторное обследование с использованием молекулярно-биологических (ПЦР-РВ) как основных иммунохимических (ИФА) как дополнительных методов. Подтверждением активной репликации ЦМВ является обнаружение ДНК вируса в образцах цельной венозной крови, мазка со слизистой оболочки ротоглотки и/или мочи. Выявление только вирусоспецифических AT-IgG не является достоверным маркером может быть врожденной ЦМВИ, так как их присутствие следствием Представленное трансплацентарного переноса ОТ матери. исследование демонстрирует необходимость проведения комплексного клинико-лабораторного обследования новорожденных и детей первого года жизни с перинатальным поражением ЦНС с целью своевременного выявления врожденной ЦМВИ для снижения тяжести поражения ЦНС и инвалидизации детей.

Таким образом, нами представлены возможности интеграции диагностических технологий на основе разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ToRCH-группы. Внедрение комплекса методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в алгоритмы диагностики инфекций ToRCH-группы обеспечивает высокий уровень достоверности получаемых результатов лабораторного исследования и их прогностическую ценность.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ Roseolovirus humanbeta6a/b В РАЗВИТИИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ И ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ

При исследовании лабораторных маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у различных групп пациентов, в том числе и детей грудного возраста, выявлено, что высокая концентрация вирусной ДНК в образцах цельной венозной крови и других видах биологического материала обследуемых, определяемая с помощью методов амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР, ПЦР-РВ), не всегда свидетельствует о развитии острого инфекционного процесса и характеризует его активность. Для подтверждения данного утверждения представляем описание двух клинических случаев.

6.1 Первые случаи выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b у детей грудного возраста в Российской Федерации

6.1.1 Расшифровка случая внутрисемейной наследственной передачи хромосомно-интегрированного Roseolovirus humanbeta6a в трех поколениях

В период с февраля 2017 по март 2018 гг. на базе ГБУЗ Научно-практический центр Детской психоневрологии ДЗМ и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора проведено динамическое комплексное клинико-лабораторное обследование пары «мать – ребенок» (мать 1986 г.р., ребенок 2016 г.р., далее именуемые семья F1) с использованием иммунохимических и молекулярно-биологических методов диагностики [253]. Период наблюдения составлял 13 месяцев.

Из анамнеза известно: мальчик от первой беременности, протекавшей: в I триместре – с ретрохориальной гематомой, повышением Д-димера, во II триместре - без особенностей, в III триместре - анемией беременных. Роды первые, самопроизвольные в срок. При рождении: вес 3570 г, длина тела 54 см, окружность головы – 36 см, окружность груди – 36 см; оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Неонатальный период протекал без особенностей. В возрасте 1,5 месяцев на фоне клинического здоровья при лабораторном обследовании мальчика выявлены изменения в гемограмме: анемия (гемоглобин $-85 \, г/л$), относительная нейтропения (12,6%), тромбоцитоз (506 000/мкл). В связи с этим продолжен диагностический лабораторное проводилось углубленное обследование включающее ПЦР-РВ и ИФА на ToRCH-синдром, а также УЗИ тимуса. В результате проведенного лабораторного и инструментального обследования в цельной венозной крови методом ПЦР-РВ выявлена ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации $5,14\ lg$ копий/ 10^5 клеток при отсутствии специфических AT-IgG к AГ ВГЧ-6a/b в сыворотке крови (коэффициент позитивности – 0,16); по данным УЗИ – тимомегалия III степени. На основании результатов клинико-лабораторного обследования ребенку выставлен диагноз: «Острая инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6 типа?». Мать соматически здорова. На момент клиниколабораторного обследования – жалоб не предъявляла, клинических симптомов активной инфекции у нее не выявлено. Женщина ранее на специфические маркеры ВГЧ-6а/b-инфекции лабораторно не обследована. Показатели биохимического анализов крови в пределах диапазона референсных значений.

Дальнейшее обследование пациентов включало лабораторное подтверждение или исключение активной ВГЧ-6а/b-инфекции, в результате которого ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ выявлена в высокой концентрации во всех видах исследованного биологического материала, как у ребенка, так и матери (таблица 6.1). При этом концентрация специфической вирусной ДНК превышала 5 lg копий/10⁵ клеток без увеличения значений в динамике.

Таблица 6.1 — Результаты выявления и количественного определения специфических лабораторных маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у пары «мать — ребенок»

Вид биологического материала; аналит, единицы	Пациент		
измерения; метод исследования	мать	ребенок	
Цельная венозная кровь; ДНК R.humanbeta6a/b,	5,23	5,24	
1 g копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ			
Плазма венозной крови; ДНК R.humanbeta6a/b,	5,10	5,10	
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ			
Сыворотка венозной крови; вирусоспецифические АТ-	0,68	0,18	
IgG, коэффициент позитивности; ИФА			
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки; ДНК	5,27	5,29	
$R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ			
Моча; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	н/и	5,35	
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ			
Примечание – Н/и – исследование не проводили		-1	

В образцах сыворотки крови пациентов специфические AT-IgG к AГ ВГЧ-6a/b методом ИФА не обнаружили (коэффициент позитивности: мать -0.68, ребенок -0.18). Последующее динамическое ИФА-исследование образцов парных сывороток крови матери и мальчика, взятых с интервалом 14 дней, сероконверсию вирусоспецифических AT-IgG не выявило.

Полученные данные лабораторного обследования и отсутствие у пациентов клинических признаков активной инфекции явились основанием для подозрения на наличие наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса у матери и ребенка, что потребовало необходимости подтверждения или исключения факта наследственной передачи эндогенного хромосомно-интегрированного вируса от матери ребенку. Для подтверждения или опровержения данного предположения проведено дополнительное исследование образцов волосяных фолликулов, ногтевых пластин матери и ребенка методом ПЦР-РВ (таблица 6.2). Определение ДНК ВГЧ-6а/b в

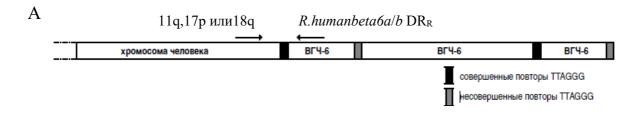
данных видах биологического материала свидетельствовало о выявлении хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству.

Таблица 6.2 — Результаты количественного определения ДНК ВГЧ-6a/b в образцах волосяных фолликулов и ногтевых пластин пары «мать — ребенок» методом ПЦР-PB, 1g копий/ 10^5 клеток

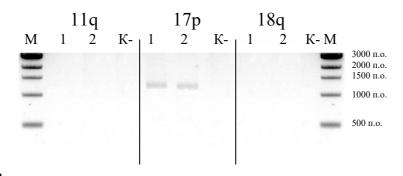
Вид биологического материала	Пациент	
	мать	ребенок
Волосяные фолликулы	5,00	5,15
Ногтевые пластины	5,63	5,37

При проведении исследования тотальной ДНК пациентов методом ПЦР со специфическими праймерами, комплементарными участку вирусной ДНК и хромосом человека, с последующим секвенированием нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру), у матери и ребенка подтвержден хиВГЧ-бастатус, передаваемый по наследству (рисунок 6.1A–B).

В результате проведения ПЦР при использовании праймера 17р получен ампликон длиной 1300 нуклеотидов, как для матери, так и ребенка, при этом для праймеров 11q и 18q продуктов амплификации не наблюдали. Последовательности двух полученных ампликонов были идентичны и включали с одной стороны участок генома *R.humanbeta6a*, с другой — часть 17р хромосомы человека, между которыми располагался участок с теломерными повторами длиной около 300 нуклеотидов.



Б сайт интеграции – хромосома человека



В

CATAGATCGGGACTGCTTGAAAGCGCGTCGCGTTGGTCTCTTATATAGGC ACCCCAGGGAGTGGGAGGAGTCGACATACAAAGGAGGTGCGTCCGGAGT CGGAGACGCACAGCCTTGGCGGGAAGACGACAACAGGTTTAAAAATAGA CAGTGAAAAAAAATAGCAGACTATGACATCGAATACACATGTGGCGATC ATCCAATCAACGGGGTGTATGGAGGCGCAAAAACAAAAGTATGCGGAAG TGCACACGACACGGTCACGCGGACCGAAGACAGAGGGCGACCGCTAGCA TGGCAAGTATAAGAAAAAAACCATGTTCCAAAAACACCTATACGGGAA ACACCTCTTCACCCCCTCGCCGTCCCACCCAACGCAACAGTCACCTCCGT AATCCGTTGTCACCGCGTATCTACCACGGACGCGTACACACGCAGACACA CAGACACGCACACCCATGTGGTAGTCGCGGGTGGGTACGTAGAT GGGGCATACCGGGGTGAGACTTGAAGACAATTCAAAACGACATCGCGCG CGACGTGCCACCGTCTGGGACCGACGGTCGCCTGGCACGGTGCCAAAGG AAACCACCGGCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAA CCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACC <u>CTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCT</u> <u>AACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAA</u> <u>CCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCNNNNN</u> NNNNNNNNNNNNNNNNNNNTAACCCNAACCCNNNNNNTAACCCTAACCCT TCCTCAGCCTCTCAACCTGCTTGGGTTACAGGTATGAGCCCGGGTGCCTA CCAAATTATGAAAATTCTACCTTAAACAATACCAATAGCAATATTATACT TAGGAATAAATGGAATGAAACGACAAGACTTAGATGAGGGAAATTATAA GACATTACTTAAGGAAATTAAACTTCCAGTAAATGTAAAAATGTATCTTA TTTGTGGATTTGTAGACCACATTGTTAAGTTTCCCAAAGTACACAAAGCA ATCCGTGGATTCGATGTT

хромосома человека

Shumanhetaba

 Π р и м е ч а н и е -1 – ДНК клинического изолята MOW-F1M; 2 – ДНК клинического изолята MOW-F1C; К- – отрицательный контроль, проведения ПЦР; М – маркер молекулярной массы

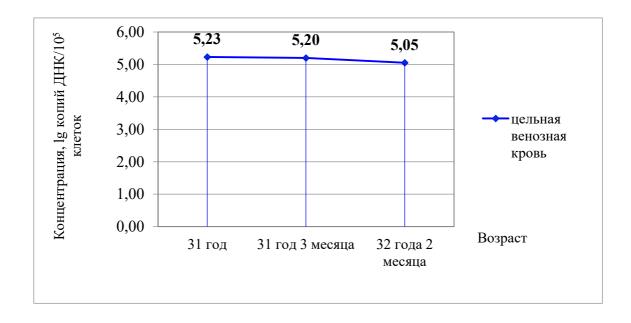
Рисунок 6.1 А—В — Схематическое изображение расположения специфических праймеров при подтверждении интеграции *R.humanbeta6a* в субтеломерную область хромосомы человека по J. H. Arbuckle et al. [196] с изменениями (A); электрофореграмма образцов тотальной ДНК матери (MOW-F1M) и ребенка (MOW-F1C) после ПЦР со специфическими праймерами (Б); последовательность полученных ПЦР-ампликонов (В)

Следует отметить, что ДНК ВГЧ-6а выявлялась во всех видах исследуемого биологического материала матери и ребенка с наследуемым хиВГЧ-6а-статусом на протяжении всего дальнейшего периода наблюдения на фоне отсутствия ярко выраженных клинических симптомов активной инфекции у пациентов.

При этом определяемая концентрация ДНК вируса коррелировала с количеством клеток в исследуемых биологических образцах пациентов, оцениваемым по β -глобиновому гену. В крови концентрация ДНК ВГЧ-6а составляла у матери — $5,16\pm0,10$, ребенка — $5,14\pm0,11$ lg копий/ 10^5 клеток (рисунок 6.2A– \overline{b}).

В образцах других видов биологического материала ДНК ВГЧ-6а обнаруживали в концентрации: плазма крови $-5,16\pm0,08$ и $5,10\pm0,10$ lg копий/ 10^5 клеток; мазок со слизистой оболочки ротоглотки $-5,36\pm0,12$ и $5,20\pm0,15$ lg копий/ 10^5 клеток у матери и ребенка соответственно; моча $-5,35\pm0,05$ lg копий/ 10^5 клеток (ребенок). Параллельно с обнаружением вирусной ДНК вирусоспецифические AT-IgG методом ИФА в образцах сыворотки крови мальчика и матери ни разу не выявили за весь период клинико-лабораторного наблюдения.

A





 Π р и м е ч а н и е - А - мать, \overline{b} - ребенок

Рисунок 6.2 A, Б – Результаты количественного определения ДНК *R.humanbeta6a* в крови матери и ребенка методом ПЦР-РВ за период 13 месяцев наблюдения

При подтверждении или опровержении наследственной передачи хиВГЧ-6а проведено обследование ближайших родственников пары «мать – ребенок» (члены одной семьи F1 в трех поколениях): отца ребенка, родной сестры матери, бабушки и дедушки ребенка по материнской линии. На момент клинико-лабораторного обследования пациенты жалоб не предъявляли, клинических симптомов течения инфекционного процесса у них не выявлено. Показатели общего и биохимического анализов крови – в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи – без патологии. Родной сестре матери (тетя ребенка), дедушке по материнской линии в связи с удаленностью проживания проведено исследование только образцов волосяных фолликулов и ногтевых пластин методом ПЦР-РВ (таблица 6.3).

Таблица 6.3 — Результаты выявления и количественного определения специфических лабораторных маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у членов семьи F1 пары «мать — ребенок» с наследственной передачей хромосомно-интегрированного ВГЧ-6а (*R.humanbeta6a*)

Вид биологического материала;		Паці	иент			
аналит, единицы измерения; метод	отец	родная	бабушка	дедушка		
исследования		сестра	по линии	по линии		
		матери	матери	матери		
Цельная венозная кровь; ДНК	не обнару-	н/и	не обнару-	н/и		
R.humanbeta6a/b,	жено		жено			
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ						
Плазма венозной крови; ДНК	не обнару-	н/и	не обнару-	н/и		
R.humanbeta6a/b,	жено		жено			
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ						
Мазок со слизистой оболочки	не обнару-	н/и	не обнару-	н/и		
ротоглотки; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	жено		жено			
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ						
Моча; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , lg	н/и	н/и	не обнару-	н/и		
копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ			жено			
Сыворотка венозной крови;	6,40	н/и	5,79	н/и		
вирусоспецифические AT-IgG,						
коэффициент позитивности, ИФА						
Волосяные фолликулы; ДНК	не обнару-	не обнару-	не обнару-	5,01		
$R.humanbeta6a/b$, \lg копий/ 10^5	жено	жено	жено			
клеток; ПЦР-РВ						
Ногтевые пластины; ДНК	не обнару-	не обнару-	не обнару-	5,84		
<i>R.humanbeta6a/b</i> , lg копий/10 ⁵	жено	жено	жено			
клеток; ПЦР-РВ						
Примечание – Н/и – исследование не проводили						

У отца ребенка ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ не выявлена ни в одном из видов исследованного биологического материала параллельно с обнаружением

вирусоспецифических AT-IgG (коэффициент позитивности 6,40) в сыворотке крови. Отсутствие ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов, ногтевых пластин отца ребенка полностью исключило наличие у него наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса. Поэтому дальнейшее обследование ближайших родственников по отцовской линии принято нецелесообразным.

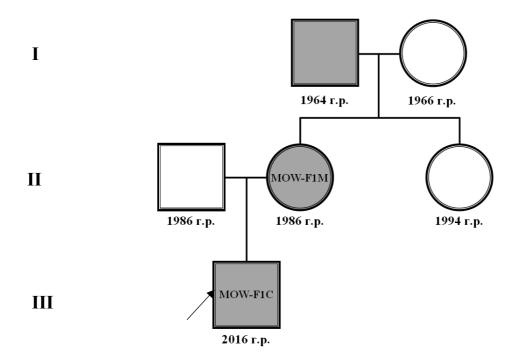
По материнской линии проведено дополнительное обследование трех ближайших молекулярно-биологического родственников. В результате исследования ДНК ВГЧ-6а/в методом ПЦР-РВ не выявлена ни в одном из видов протестированного биологического материала родной сестры матери и бабушки ребенка. В сыворотке крови бабушки ребенка обнаружены специфические AT-IgG к АГ ВГЧ-6a/b методом И Φ А (коэффициент позитивности – 5,79). Отсутствие ДНК ВГЧ-6а/ь в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин данных пациентов исключило у них наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус. У дедушки ребенка по материнской линии на основании обнаружения ДНК ВГЧ-6а/b в образцах волосяных фолликулов (5,01 lg копий/ 10^5 клеток) и ногтевых пластин $(5,84 \text{ lg копий}/10^5 \text{ клеток})$ с последующей видовой идентификацией - ВГЧ-6а (данные получены с помощью метода массового параллельного секвенирования) подтвержден хиВГЧ-ба-статус, передаваемый по наследству.

В результате проведенного опроса установлено, что мужчина (1964 г.р.) с подтвержденным наследуемым хиВГЧ-ба-статусом родом из города Дубоссары Приднестровской Молдавской Республики. Достоверных официальных данных по состоянию здоровья и причине смерти его родителей получить не удалось.

Полученные результаты молекулярно-биологического исследования позволили лабораторно подтвердить случай наследственной передачи эндогенного хиВГЧ-6а (рисунок 6.3).

За время динамического наблюдения (13 месяцев) при повторных клинических обследованиях отклонения в состоянии здоровья как матери, так и ребенка не выявлены. У мальчика: психомоторное развитие за первый год жизни соответствовало возрастной норме; в крови: длительно абсолютная нейтропения, тромбоцитоз, не имевшие клинических эквивалентов. Значение нейтрофилов,

тромбоцитов и размер тимуса нормализовались самостоятельно к 11-и месячному возрасту. Специфической противовирусной терапии ни мать, ни ребенок не получали. Хронические соматические или инфекционные заболевания у пациентов не зафиксированы. Зарегистрированы лишь острые респираторные заболевания, протекавшие без осложнений, и с частотой, не превышающей популяционную. Лабораторных данных, подтверждающих реактивацию наследуемого хиВГЧ-6а или первичное заражение экзогенным ВГЧ-6а/b, не получено.



 Π р и м е ч а н и е - В центре геометрических фигур указаны краткие названия выделенных клинических изолятов эндогенного хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a, передаваемого по наследству (прописные латинские буквы и арабские цифры)

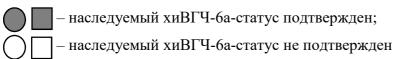


Рисунок 6.3 — Наследственная передача эндогенного хиВГЧ-6а у членов семьи F1 в трех поколениях

Для подтверждения или опровержения гипотезы о высокой схожести двух клинических эндогенных изолятов наследуемого хиВГЧ-6а матери (MOW-F1M) и

ребенка (MOW-F1C) между собой проведена их углубленная генетическая характеристика. В результате предварительного целевого обогащения вирусного генома и последующего секвенирования для образца MOW-F1M получен драфтгеном протяженностью 144 044 нуклеотидов, а для MOW-F1C – 142 503 нуклеотидов, которые В целом воспроизводили полногеномную хиВГЧ-6а, последовательность передаваемого по наследству. Аннотация последовательностей геномов изучаемых клинических эндогенных изолятов выявила одинаковое количество кодирующих открытых рамок считывания – 84, как для MOW-F1M, так и для MOW-F1C.

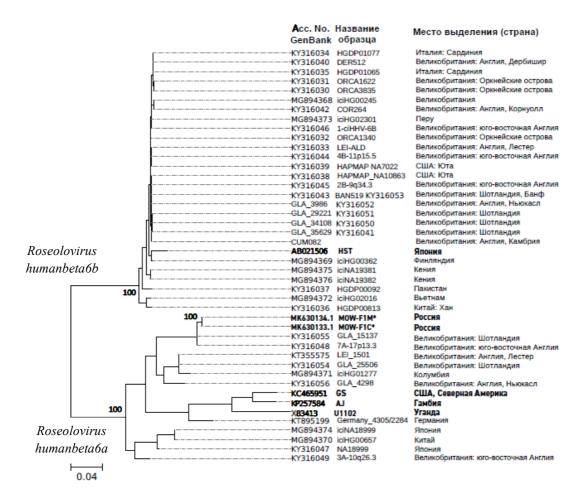
В целом проведенное сравнение белок-кодирующих генов между двумя секвенированными клиническими эндогенными изолятами хиВГЧ-6а и референстеномами ВГЧ-6а позволило определить схожее соотношение общего количества кодирующих открытых рамок считывания. Более того, при непосредственном сравнении нуклеотидных последовательностей набора ортологичных генов двух геномов МОW-F1M и MOW-F1C между собой не выявлено различий (инсерций, делеций, однонуклеотидных вариаций), что свидетельствовало об их 100% схожести и подтверждало наследственную передачу хиВГЧ-6а.

При изучении филогенетического положения геномов двух российских клинических изолятов наследуемых хиВГЧ-ба в контексте глобального генетического разнообразия хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, нами проведен филогенетический анализ на основе сравнения 53 групп ортологичных генов, выявленных среди 40 геномов эндогенных штаммов/изолятов (MOW-F1M, MOW-F1C и 38 ранее депонированных в международную базу данных NCBI [224]) и 4 эталонных экзогенных штаммов *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, представленных в международной базе данных NCBI [224]. В целом, для сравнительного филогенетического анализа использовали 42 полногеномных последовательности штаммов/изолятов ВГЧ-6а И ВГЧ-6Ь, выделенных в различных странах мира (Великобритания, Вьетнам, Гамбия, Германия, Италия, Кения, Колумбия, Китай, Пакистан, Перу, США, Уганда, Финляндия, Япония). Из них: 38 геномов эндогенных штаммов/изолятов (11 наследуемых хиВГЧ-6а, 27

наследуемых хиВГЧ-6b) и 4 генома эталонных экзогенных штаммов (3 ВГЧ-6a, 1 ВГЧ-6b). Общая длина выравнивания составила 79 443 нуклеотидов. Анализ показал, что геномы эндогенных, передаваемых по наследству, хиВГЧ-6а российских изолятов MOW-F1M И MOW-F1C клинических формируют монофилитическую ветвь и относятся к самостоятельной группе ВГЧ-6а. Наиболее филогенетически близкими к ним являлись геномы хиВГЧ-6а штаммов GLA 15137 (асс. КҮ316055) [254] и 7А-17р13.3 (асс. КҮ316048) [255] (рисунок 6.4). Оба штамма выделены в Европейском регионе: эндогенный наследуемый хиВГЧ-ба штамм GLA 15137 (асс. KY316055) в Шотландии, выявлен у женщины, сайт эндогенный указан [254]; хромосомно-интегрированный наследуемый хиВГЧ-6а штамм 7А-17р13.3 (асс. КУ316048) – в юго-восточной Англии, выявлен у мужчины, сайт интеграции – 17р13.3 хромосома [255]. Представляет интерес тот факт, что у одного из этих двух европейских эндогенных штаммов определен сайт интеграции, предположительно совпадающий с сайтом интеграции изучаемых российских клинических изолятов.

Таким образом, нами продемонстрированы данные, свидетельствующие о Российской первом Федерации случае выявления И лабораторного наследственной подтверждения передачи хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a*. Данный случай представляет собой наследственную передачу хиВГЧ-6а в трех поколениях: отец – дочь – внук. Для выявления и лабораторного наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса подтверждения показано использование молекулярно-биологических методов: ПЦР-РВ в количественном формате с расчетом соотношения количества специфической ДНК вируса к клеткам человека (lg копий ДНК ВГЧ-6а/b/ 10^5 клеток человека), а также ПЦР со специфическими праймерами, комплементарными участку вирусной ДНК и хромосом человека, с последующим проведением реакции секвенирования (по Сэнгеру). Достоверно свидетельствовали об эндогенной хромосомно-интегрированной форме вируса: концентрация ДНК ВГЧ-6a/b \geq 5,0 (5,15+0,10) lg копий/ 10^5 клеток крови, сохраняющаяся с течением времени; обнаружение ДНК ВГЧ-6а/b в образцах волосяных фолликулов и/или ногтевых пластин ($\geq 5,0$ (5,05+0,08) lg копий/ 10^5

клеток и \geq 5,0 (5,61 \pm 0,24) lg копий/ 10^5 клеток соответственно); определенный сайт интеграции (одинаковый для матери и ребенка; для дедушки по материнской линии данное исследование не проводилось) – 17р хромосома.



 Π р и м е ч а н и е – полужирным шрифтом обозначены эталонные экзогенные штаммы R.humanbeta6a, R.humanbeta6b; полужирным шрифтом и * – клинические изоляты (MOW-F1M, MOW-F1C) хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a, передаваемого по наследству (Москва, РФ, 2017); цифра 100 – значение бутстрэп-анализа (достоверность формирования клады)

Рисунок 6.4 — Филогенетическое дерево, построенное на основе объединенных 53 групп ортологичных генов последовательностей референс-геномов эталонных экзогенных штаммов *R.humanbeta6a* [233] и *R.humanbeta6b* [234], методом максимального правдоподобия

Наследственная передача хиВГЧ-6а в семье F1 дополнительно подтверждена данными полногеномного секвенирования, свидетельствующими о 100% схожести MOW-F1M и MOW-F1C, полученной между собой двух геномов сравнении последовательностей непосредственном нуклеотидных набора ортологичных генов. Геномы эндогенных, передаваемых по наследству, хиВГЧ-6а российских клинических изолятов MOW-F1M и MOW-F1C, выделенные в феврале 2017 года в городе Москве, формируют монофилитическую ветвь и относятся к самостоятельной группе R.humanbeta6a. Наиболее филогенетически близкими к ним являлись геномы наследуемых хиВГЧ-6а штаммов GLA 15137 (асс. KY316055) [254] и 7A-17p13.3 (acc. KY316048) [255], изолированные ранее в Европейском регионе.

Нуклеотидные последовательности, полученные в настоящей работе, депонированы в международную базу данных NCBI [224] под номерами: клинический изолят *R.humanbeta6a* MOW-F1M – MK630134.1 [256]; клинический изолят *R.humanbeta6a* MOW-F1C – MK630133.1 [257].

6.1.2 Расшифровка случая внутрисемейной наследственной передачи хромосомно-интегрированного Roseolovirus humanbeta6b в двух поколениях

В период с июня по июль 2018 года на базе ГБУЗ Детская городская клиническая больница имени Н. Ф. Филатова ДЗМ и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора проведено динамическое комплексное клинико-лабораторное обследование пары «мать – 2 ребенка из двойни» (мать 1982 г.р., девочка 2018 г.р., мальчик 2018 г.р., далее именуемые семья F6) с использованием иммунохимических и молекулярно-биологических методов диагностики [258]. Период наблюдения составил 2 месяца.

Новорожденные, девочка и мальчик, находились в отделении патологии новорожденных ГБУЗ Детская городская клиническая больница имени Н. Ф. Филатова ДЗМ в течение 42 дней со следующими диагнозами:

- девочка: Врожденная пневмония. Церебральная ишемия. Гемолитическая болезнь новорожденного, резус-конфликт, желтушная форма, тяжелое течение. Недоношенность 29 недель. Первый ребенок из двойни. Инфекция, вызванная ВГЧ-6а/b. В анамнезе: желудочное кровотечение (купировано);
- мальчик: Врожденная инфекция, вызванная вирусом простого герпеса [herpes simplex]. Бронхолегочная дисплазия. Дыхательная недостаточность. Церебральная ишемия. Перивентрикулярная лейкомаляция. Недоношенность 29 недель. Второй ребенок из двойни. Анемия недоношенных. В анамнезе: врожденная пневмония; гемолитическая болезнь новорожденного, резусконфликт, желтушная форма, тяжелое течение; неонатальные судороги.

Из анамнеза известно, что дети от третьей многоплодной беременности, протекавшей у матери 35 лет с токсикозом (6–15 недели гестации), с угрозой прерывания с нарастанием концентрации антирезусных антител, что потребовало внутриутробного переливания крови обоим плодам в 27 недель гестации. В 29 недель 2 дня после отхождения околоплодных вод, путем операции кесарево сечения были извлечены в тяжелом состоянии девочка (вес – 1240 г, длина тела – 39 см, окружность головы -28 см, окружность груди -24 см) и мальчик (вес -980 Γ , длина тела – 36 см, окружность головы – 27 см, окружность груди – 23 см). Тяжесть состояния при рождении обоих новорожденных была обусловлена дыхательной недостаточностью, вводился сурфактант с целью профилактики респираторного дистресс-синдрома, проводилась неинвазивная респираторная поддержка. Однако состояние обоих детей постепенно ухудшалось за счет дыхательной нарастания недостаточности, течением некротизирующего энтероколита, повторными желудочными кровотечениями.

Кроме того, на 2 сутки жизни отмечалось нарастание уровня непрямого билирубина, что было расценено как проявление гемолитической болезни, Rh-изоиммунизация, тяжелой степени. По поводу чего оба ребенка получали консервативное лечение в виде фототерапии.

Из данных лабораторных обследований обращали на себя внимание лейкопения (до $3.2 \times 10^9/л$ – у девочки, $3.1 \times 10^9/л$ – у мальчика), тромбоцитопения

(до 50х10⁹/л), тяжелая анемия (до 98 г/л), потребовавшая коррекции эритроцитарной взвесью. Клинические проявления и анализ данных лабораторного обследования явились основанием для расценивания состояния как течение врожденной инфекции.

У обоих детей проводились практически идентичные схемы комплексной терапии, включавшие инфузионную терапию и парентеральное питание, внутривенную антибактериальную терапию (амоклициллина клавуланат 60 мг/кг/сут, гентамицин 4 мг/кг/сут, меропенем 60 мг/кг/сут, ванкомицин 20 мг/кг/сут), противогрибковую (флюконазол 3 мг/кг/72 ч), гемостатическую (менадиона натрия бисульфит, этамзилат натрия 12,5%, свежезамороженная плазма O(I)Rh(+)), иммуноглобулин человеческий для внутривенного введения из расчета 400 мг/кг/сут на три введения, коррекция анемии эритроцитарной взвесью O(I)R(-) однократно. На фоне проводимой терапии была отмечена положительная динамика, что позволило на 8 сутки от начала комплексной терапии перевести новорожденных на второй этап выхаживания в отделении реанимации.

Состояние девочки быстро стабилизировалось, на 13 сутки она была экстубирована, на 18 сутки в стабильном состоянии, с удовлетворительными показателями общего анализа крови переведена в отделение выхаживания недоношенных. Состояние мальчика оставалось более тяжелым, на 14 сутки жизни отмечалось легочное кровотечение, искусственная вентиляция легких продолжалась до 43 суток жизни. В неврологическом статусе преобладал синдром угнетения, на 21 сутки жизни появились тонико-клонические судороги, потребовавшие назначения противосудорожной терапии.

В связи с ухудшением общего состояния и нарастанием тяжести неврологической симптоматики принято решение о необходимости выполнения люмбальной пункции. При лабораторном исследовании спинномозговой жидкости патологии не выявлено. Данные лабораторного обследования новорожденного мальчика, проведенного с целью исключения активного течения инфекционных заболеваний представлены в таблице 6.4.

Таблица 6.4 — Результаты динамического лабораторного обследования новорожденного мальчика на специфические маркеры инфекционных заболеваний, специфичных для перинатального периода при использовании методов ПЦР-РВ и ИФА

Возбудитель	Аналит, в	ид биологичес	ского материала	а, метод, возра	ст обследуемого
	ДНК,	ДНК,	ДНК,	ДНК, моча,	специфические
	отделяемое	цельная	спинно-	ПЦР-РВ,	AT-IgG,
	ротоглотки	венозная	мозговая	13 сут	сыворотка
	(мазок),	кровь,	жидкость,	ингиж	венозной крови,
	ПЦР-РВ,	ПЦР-РВ,	ПЦР-РВ,		ИФА,
	10 сут	13 сут	21 сут		13 сут жизни
	мизни	ингиж	ингиж		
S.humanalpha1	н/и	не обнару-	не обнару-	н/и	обнаружено
		жено	жено		
S.humanalpha2	н/и	не обнару-	не обнару-	н/и	обнаружено
		жено	жено		
L.humangamma4	не обнару-	не обнару-	н/и	не обнару-	не обнаружено
	жено	жено		жено	
C.humanbeta5	<200	не обнару-	не обнару-	н/и	обнаружено
	копий/мл	жено	жено		
R.humanbeta6a/b	5,2x10 ⁵	5,2 lg	обнаружено	$5,0x10^5$	не обнаружено
	копий/мл	копий/ 10^5		копий/мл	
		клеток			
S.aureus MSSA	<800	н/и	н/и	н/и	н/и
	копий/мл				
T.gondii	н/и	н/и	н/и	н/и	не обнаружено
C.albicans/	<200 ГЭ/мл	не обнару-	не обнару-	н/и	н/и
C.glabrata /		жено	жено		
C.krusei					
Примечание — Н/и — исследование не проводили					

Учитывая клинические проявления и данные лабораторного обследования новорожденным была скорректирована проводимая комплексная терапия — назначен ганцикловир 10 мг/кг/сут на 6 недель, однако на фоне его внутривенного капельного введения отмечалась нейтропения (до 22х10⁹/л), лейкопения (2,7х10⁹/л), тромбоцитопения (102х10⁹/л). После проведения консультации совместно с врачом-нефрологом принято решение о уменьшении дозы ганцикловира до 3 мг/кг/сут с учетом клиренса креатинина, кроме того, нейтропения потребовала введения колониестимулирующего фактора в дозе 5 мкг/кг/сут.

При повторном лабораторном исследовании образцов цельной венозной крови новорожденного мальчика: ДНК ЦМВ не обнаружена, но определяемая концентрация ДНК ВГЧ-6а/b во всех исследуемых образцах биологического материала достоверно не изменилась.

Аналогичная картина лабораторных показателей наблюдалась у его сестры (новорожденной девочки, первый ребенок из двойни), состояние которой в отличие от брата оставалось стабильным, средней степени тяжести, однако несмотря на четкое клинические улучшение, уровень вирусной нагрузки (концентрация ДНК) ВГЧ-6а/b сохранялся на том же уровне. Данные динамического лабораторного обследования новорожденной девочки на специфические маркеры герпесвирусных инфекций методом ПЦР-РВ на 13 сутки жизни и через 9 дней (22 сутки жизни) представлены в таблицах 6.5 и 6.6. Полученные данные динамического лабораторного обследования новорожденных до и после проводимой этиотропной терапии и несоответствие их клиническим эквивалентам явились основанием для подозрения на наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус у пациентов.

Для подтверждения или опровержения данного предположения проведено дополнительное расширенное лабораторное обследование новорожденных на специфические лабораторные маркеры ВГЧ-6а/b-инфекции в отделе молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, включающее исследование образцов ногтевых пластин и волосяных фолликулов детей методом ПЦР-РВ (таблица 6.7).

Таблица 6.5 — Результаты лабораторного обследования новорожденной девочки (13 сутки жизни) на специфические маркеры герпесвирусных инфекций методом ПЦР-РВ

Аналит	Вид би	Вид биологического материала			
	цельная венозная кровь	слюна	моча		
ДНК S.humanalpha1	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК S.humanalpha2	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК C.humanbeta5	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК R.humanbeta6a/b	4,9 lg копий/10 ⁵ клеток	4,5х10 ³ копий/мл	9,5х10 ⁴ копий/мл		

Таблица 6.6 – Данные лабораторного обследования девочки (22 сутки жизни) на специфические маркеры герпесвирусных инфекций методом ПЦР-РВ

Аналит	Вид би	Вид биологического материала			
	цельная венозная кровь	слюна	моча		
ДНК S.humanalpha1	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК S.humanalpha2	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК C.humanbeta5	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено		
ДНК R.humanbeta6a/b	5,4 lg копий/10 ⁵ клеток	$1,1$ х 10^4 копий/мл	1,1х10 ⁵ копий/мл		

Таблица 6.7 — Результаты качественного и количественного определения специфических лабораторных маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у новорожденных

Вид биологического материала; аналит, единицы		Пациент	
измерения; метод исследования	девочка	мальчик	
Цельная венозная кровь; ДНК R.humanbeta6a/b,	4,94	4,95	
lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ			
Плазма венозной крови; ДНК R.humanbeta6a/b,	4,96	5,12	
\lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ			
Сыворотка венозной крови; вирусоспецифические AT-IgG,	5,34	2,59	
коэффициент позитивности; ИФА			

Продолжение таблицы 6.7

Вид биологического материала; аналит, единицы	Пациент	
измерения; метод исследования	девочка	мальчик
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки; ДНК	5,39	5,09
$R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		
Моча; ДНК R.humanbeta6a/b, lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ	5,07	5,45
Волосяные фолликулы; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , 1g копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ	4,90	5,30
Ногтевые пластины; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ	5,46	5,47

В результате проведенного ПЦР-исследования во всех образцах биологического материала новорожденных, как девочки, так и мальчика обнаружена ДНК ВГЧ-6а/b (R.humanbeta6a/b). Обнаружение ДНК ВГЧ-6а/b в образцах волосяных фолликулов, ногтевых пластинах девочки (первый ребенок из двойни) и мальчика (второй ребенок из двойни) в концентрации: 4,90 и 5,30, 5,47 и 5,46 \log копий/ \log клеток соответственно, подтвердило наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус пациентов.

Видовая идентификация вируса в образцах тотальной ДНК новорожденных определена на основании данных полногеномного секвенирования. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей вирусной ДНК в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных NCBI [224], показал принадлежность двух изучаемых клинических изолятов MOW-F6C1 и MOW-F6C2 к ВГЧ-6b (*R.humanbeta6b*).

Для подтверждения или опровержения наследственной передачи хиВГЧ-6b клинико-лабораторно обследованы родители новорожденных: мать и отец. Лабораторное обследование проведено в расширенном формате и включало в себя: определение вирусоспецифических AT-IgG в образцах сыворотки венозной крови методом ИФА и ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, плазмы венозной крови, мазка со слизистой оболочки ротоглотки, мочи, волосяных фолликулов и ногтевых пластин методом ПЦР-РВ в количественном формате.

Результаты лабораторного обследования представлены в таблице 6.8. Необходимо подчеркнуть, что на момент клинико-лабораторного обследования родители новорожденных были условно здоровы и жалоб не предъявляли.

Таблица 6.8 — Результаты качественного и количественного определения специфических маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у родителей новорожденных

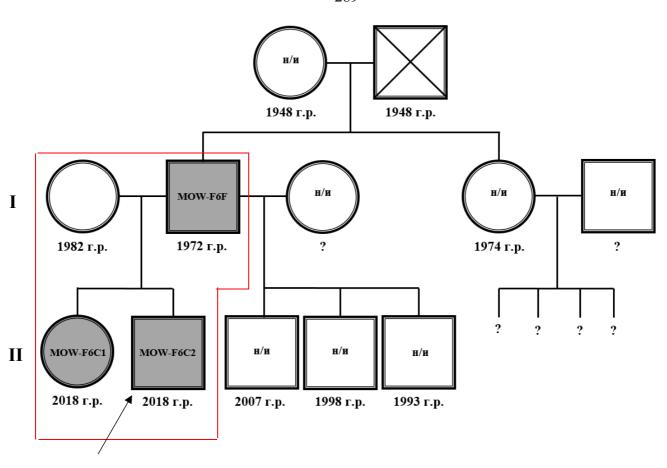
Вид биологического материала; аналит, единицы	Пацие	НТ
измерения; метод исследования	мать	отец
Цельная венозная кровь; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	не обнаружено	4,93
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ		
Плазма венозной крови; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	не обнаружено	4,99
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ		
Сыворотка венозной крови; вирусоспецифические	15,03	0,12
AT-IgG, коэффициент позитивности, ИФА		
Мазок со слизистой оболочки ротоглотки; ДНК	не обнаружено	5,27
$R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		
Моча; ДНК $R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток;	не обнаружено	5,20
ПЦР-РВ		
Волосяные фолликулы; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , lg	не обнаружено	5,01
копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		
Ногтевые пластины; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , lg	не обнаружено	5,92
копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		

Анализ результатов ИФА показал наличие специфических AT-IgG к AГ ВГЧ-6а/b в образцах сыворотки венозной крови матери (коэффициент позитивности – 15,03) и их отсутствие у отца (коэффициент позитивности – 0,12) (таблица 6.8). При ПЦР-исследовании ДНК ВГЧ-6а/b не обнаружена у матери новорожденных и выявлена во всех видах протестированного биологического материала отца в концентрации $5,27\pm0,39$ lg копий/ 10^5 клеток (таблица 6.8). Обнаружение ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин отца в концентрации 4,93,5,01 и 5,92 lg копий/ 10^5

клеток подтвердило наличие у него наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса. В то же время отсутствие ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин матери полностью исключили его. Дальнейшее обследование ближайших родственников: по материнской линии принято нецелесообразным, а по отцовской линии провести не удалось, что в одной части случаев обусловлено их отказом от клинико-лабораторного обследования и участия в исследовании, а в другой – удаленностью проживания.

Видовая идентификация вируса в образцах тотальной ДНК отца новорожденных определена на основании данных полногеномного секвенирования. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей вирусной нуклеотидными ДНК сравнении cпоследовательностями, В международной базе NCBI [224], представленными В данных показал принадлежность изучаемого клинического MOW-F6F ВГЧ-6Ь изолята (R.humanbeta6b).

Ha основании полученных проведенного лабораторного данных обследования и подтверждения наследуемого хиВГЧ-6b-статуса, у новорожденных проведена коррекция проводимой этиотропной терапии в составе комплексного лечения – отменен ганцикловир. На фоне этого отмечалась нормализация уровня лейкоцитов и тромбоцитов в крови, а также продолжилось улучшение клинического состояния детей в соответствии с течением их основного заболевания. Таким образом, проведенные молекулярно-биологические исследования (ПЦР-РВ, полногеномное секвенирование) позволили выявить и лабораторно подтвердить наследственный хиВГЧ-6b-статус у новорожденных (девочки и мальчика из двойни) и их отца. Описываемый случай представляет собой наследственную передачу эндогенного хиВГЧ-6b в двух поколениях: от отца детям (рисунок 6.5).



П р и м е ч а н и е – Рамкой красного цвета ограничены обследованные пациенты, в центре геометрических фигур указаны краткие названия выделенных клинических изолятов эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6b*, передаваемого по наследству (прописные латинские буквы и арабские цифры)

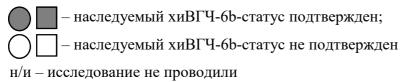


Рисунок 6.5 – Наследственная передача эндогенного хиВГЧ-6b у членов семьи F6 в двух поколениях

Сведений о месте рождения мужчины (1972 г.р.) с подтвержденным наследуемым хиВГЧ-6b-статусом, а также достоверных официальных данных по состоянию здоровья его родителей и причине смерти (отца) получить не удалось.

Ухудшение состояния новорожденного мальчика было связано с недоношенностью, незрелостью, гипоксически-ишемическим поражением органов

и систем, а не было спровоцировано наследуемым эндогенным хромосомноинтегрированным ВГЧ-6b, что позволило скорректировать проводимую комплексную терапию – отменить излишнюю терапию ганцикловиром, обладающего токсическим воздействием на желудочно-кишечный тракт, почки и костный мозг.

Представленные клинические случаи являются первым российским опытом по выявлению, лабораторному подтверждению наследуемых эндогенных хромосомно-интегрируемых *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* у детей грудного возраста, а также расшифровке случаев внутрисемейной передачи в двух и трех поколениях. За время динамического наблюдения достоверных доказательств негативного влияния хиВГЧ-6а, передаваемого по наследству, на состояние здоровья ребенка, матери, дедушки ребенка по материнской линии в первом клиническом случае, а также хиВГЧ-6b, передаваемого по наследству, на состояние здоровья новорожденных девочки (первый ребенок из двойни) и мальчика (второй ребенок из двойни), отца новорожденных во втором клиническом случае не выявлено.

Следует отметить, что изучение феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в Российской Федерации потребовало последовательного проведения:

- разработки способа экстракции, позволяющего получить из образцов биологического материала – ногтевых пластин – высокоочищенный препарат нуклеиновых кислот, свободный от ингибиторов, с высокой концентрацией, обеспечивающий высокую аналитическую чувствительность последующих молекулярно-биологических исследований;
- разработки доступного достоверного способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a/b*, применение которого исключит длительное динамическое наблюдение пациентов и обследование ближайших родственников;
- оценки распространенности хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, в Российской Федерации.

6.2 Разработка способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин

При разработке способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин [259] были взяты на рассмотрение, в качестве возможных для использования, два общепризнанно наиболее эффективных на современном этапе метода: сорбционный или преципитационный.

Сорбционные методики экстракции нуклеиновых кислот обеспечивают достаточно высокую степень очистки из различных видов биологического материала. Наиболее известным является способ выделения нуклеиновых кислот, предложенный W. R. Boom et al. (1990) [260,261]. Данный способ включает в себя стадию лизиса клеток сильным хаотропным агентом, который разрушает клеточные мембраны и инактивирует внутриклеточные РНКазы, и последующую сорбцию нуклеиновых кислот на носителе. Нуклеиновые кислоты обратимо связываются с носителем в присутствии высокой концентрации хаотропных солей (например, гуанидин хлорида, гуанидин тиоцианата). В таких условиях связывания белков с матрицей не происходит. Примеси отмываются хаотропной солью, а хаотропная соль — 80% этанолом. Очищенные нуклеиновые кислоты снимаются с носителя буфером с низкой ионной силой.

Несмотря на высокую степень популярности сорбционных методик, их применение может быть сопряжено с потерями нуклеиновых кислот вследствие необратимой сорбции на носителе или в процессе нескольких промываний. Кроме того, остаточное количество носителя (например, диоксида кремния) в конечном растворе нуклеиновых кислот может ингибировать ферментативные реакции ОТ и/или ПЦР.

Преципитация (спиртовое осаждение) предполагает агрегацию нуклеиновых кислот (как ДНК, так и РНК) в присутствии соли и спирта. После осаждения спиртом нуклеиновые кислоты отделяются от раствора центрифугированием. А затем осадок, содержащий целевые нуклеиновые кислоты, неоднократно промывается спиртами и концентрируется центрифугированием. На завершающем

этапе процедуры происходит растворение нуклеиновых кислот в водном буфере, часто в процессе инкубирования при нагревании до 55–65 °C для лучшего растворения осадка. Преимуществом данной технологии является возможность работы со «сложными» образцами, выделяя в равной степени как ДНК, так и РНК, однако спиртовое осаждение приводит к преципитации не только нуклеиновых кислот, но и белков, что в свою очередь затрудняет получение очищенного препарата. Наиболее простым путем решения проблемы с нежелательными примесями является уменьшение исходного объема анализируемого образца, однако такой подход неприменим, если необходимо получить в результате препарат нуклеиновых кислот с высокой степенью химической чистоты и высокой концентрацией.

В 2020 г. представлен способ экстракции нуклеиновых кислот методом преципитации из таких биологических образцов, как кровь, сыворотка, плазма, иные жидкости (спинномозговая жидкость, слюна, сперма, моча и др.), продукты крови, полученные из плазмы или сыворотки [262]. Указанный способ является наиболее распространенным при проведении экстракции нуклеиновых кислот преципитационным методом, однако он не позволяет обеспечить достаточно высокий процент выхода высокоочищенной тотальной ДНК/РНК из образцов ногтевых пластин.

Известен способ экстракции ДНК из биологического материала — ногтевой пластины — на основе преципитационного метода [263]. Данный способ разработан для выделения только ДНК, при этом в качестве биологического материала не могут быть использованы фрагменты ногтевых пластин. Кроме того, при реализации упомянутого способа применяется хлороформ — высокотоксичное вещество.

Для экстракции ДНК из образцов ногтевых пластин при выявлении и лабораторном подтверждении первых случаев наследственной передачи хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b использован комплект реагентов «РИБО-преп» для выделения ДНК/РНК из клинического материала по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от

06.08.2021) [253,258]. Однако дальнейшие расширенные лабораторные исследования показали, что нуклеиновые кислоты, выделенные из образцов ногтевых пластин данным способом экстракции, не обладают достаточной степенью химической чистоты и в ряде случаев имеют недостаточную концентрацию для последующего анализа методом ПЦР или ОТ-ПЦР.

Общим недостатком перечисленных выше способов является недостаточный процент выхода ДНК/РНК, степень их очистки, что, в свою очередь, снижает качество дальнейших молекулярно-биологических исследований вплоть до невозможности их проведения. Кроме того, в подавляющем большинстве случаев при выполнении процедуры экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин необходимы предварительные механические способы гомогенизации исследуемых образцов.

Разработанный нами способ, позволяющий получить из образцов биологического материала — ногтевых пластин — высокоочищенный препарат нуклеиновых кислот, свободный от ингибиторов, с высокой концентрацией, обеспечивает высокую аналитическую чувствительность последующих молекулярно-биологических исследований, таких как ПЦР, ОТ-ПЦР.

Технический результат достигается за счет того, что при проведении экстракции нуклеиновых кислот применяется метод преципитации, включающий стадии: лизиса биологического материала; преципитации; удаления супернатанта и отмывки осадка; растворение осадка, содержащего нуклеиновые кислоты, в буфере для элюции, где на стадии лизиса к ногтевым пластинам добавляют 600 мкл лизирующего буфера, затем содержимое пробирки инкубируют при температуре 65 °C в течение 20 мин, после чего перемешивают и центрифугируют при 13 000 об./мин в течение 2 мин, на стадии преципитации полученную надосадочную жидкость в объеме 400 мкл вносят в отдельные пробирки и добавляют раствор для преципитации в равном объеме. При этом для проведения одного исследования используется 2 образца ногтевых пластин размером, приближенным к 2х10 мм. Эффективность всех этапов экстракции контролируется за счет использования экзогенного ВКО, представляющего собой искусственно сконструированную

последовательность нуклеиновой кислоты, а также: ОКО – стерильный раствор, не ДНК. РНК И ПКО искусственно содержащий сконструированную последовательность нуклеиновой кислоты искомой мишени (например, фрагмент уникальной последовательности ДНК микроорганизма). При этом ВКО вносят в пробирку в объеме на 50% больше стандартного (например, рекомендуемого инструкцией к используемому набору реагентов) до момента внесения лизирующего буфера. ОКО вносят в пробирку, предназначенную для отрицательного контроля экстракции, в объеме 100 мкл. ПКО – пробирку, предназначенную для положительного контроля экстракции, в объеме 100 мкл в концентрации, увеличенной в 1,5 раза. После добавления лизирующего буфера пробирки с ОКО и ПКО тщательно перемешивают на вортексе, осаждают капли с внутренней поверхности крышки центрифугированием в течение 5 с на микроцентрифуге и только после этого инкубируют при температуре 65 °C в течение 20 мин.

В основе создания способа экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин лежит проведенное нами исследование, материалом для которого послужили 440 образцов ногтевых пластин 100 человек в возрасте от 5 дней до 80 лет (Me=29 лет), среди которых: 44,0% мужчин (44 из 100) и 56,0% женщин (56 из 100).

Сравнение эффективности экстракции нуклеиновых кислот согласно разработанному способу проводили с коммерчески доступными комплектами реагентов на основе аналогичного метода выделения тотальной ДНК/РНК, в рамках которого экстракцию нуклеиновых кислот из анализируемых образцов биологического материала осуществляли одновременно при помощи четырех методик, основанных на преципитационном методе, а именно: с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» для выделения ДНК/РНК из клинического материала по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (далее комплект реагентов № 1) в соответствии с инструкцией производителя (стандартный протокол) и его модифицированного протокола, согласно

разработанному способу, а также комплекта реагентов «ПРОБА-НК» (РУ № ФСР 2010/08867 от 13 октября 2016 года) производства ООО «НПО ДНК-Технология, РФ (далее – комплект реагентов № 2) в соответствии с инструкцией производителя (стандартный протокол) и его модифицированного протокола, согласно разработанному способу. При этом комплект реагентов № 1 (стандартный протокол) был принят за прототип заявляемого способа, а комплект реагентов № 2 (стандартный протокол) — способ сравнения.

Концентрацию нуклеиновых кислот измеряли флуориметрическим методом с применением высокочувствительных флуоресцентных зондов, способных селективно связываться с целевыми молекулами ДНК или РНК с образованием флуоресцентного комплекса. Интенсивность флуоресценции комплекса являлась пропорциональной концентрации аналита в диапазоне 0,2–100 нг/мкл и 5–100 нг/мкл, для исходного образца ДНК и РНК соответственно. Определение концентрации нуклеиновых кислот проводили с использованием флуориметра Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific, США).

Параллельно концентрацию ДНК в образцах биологического материала и отсутствие влияния ингибиторов на прохождение ферментативной реакции ПЦР-РВ c анализом полученных определяли методом результатов количественном формате с использованием набора реагентов «АмплиСенс® HHV6скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года). Расчет концентрации ДНК, оцененной по β-глобиновому гену человека, выполняли в lg копий/мл. Дополнительно проведено изучение влияния ингибиторов на ОТ-ПЦР. Оценку проводили относительно эффективности прохождение количественного определения экзогенного ВКО, представляющего собой искусственно сконструированную последовательность РНК, встроенную в фаг ms2, в концентрации $5x10^5-2x10^6$ копий/мл формате с использованием набора реагентов «АмплиСенс® HCV-Монитор-FL» по ТУ 9398-035-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2007/00577 от 27 декабря 2019 года). Расчет концентрации РНК выполняли в 1g

копий/мл. Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года), в В соответствии инструкцией производителя. результате проведенного cисследования определены количественные характеристики нуклеиновых кислот, экстрагированных из образцов ногтевых пластин (n=50) при использовании Результаты способов. сравнения четырех различных количественных характеристик нуклеиновых кислот, выделенных из образцов ногтевых пластин при использовании различных способов экстракции приведены в таблице 6.9. Для сравнительного анализа использовались пробы нуклеиновых кислот, полученные согласно способам, взятым в качестве прототипа и сравнения в стандартном и модифицированном вариантах методик.

Таблица 6.9 — Сравнение количественных характеристик нуклеиновых кислот, выделенных из образцов ногтевых пластин (n=50) при использовании различных способов экстракции

Количественная	Комплект реагентов			
характеристика	№ 1		№ 2	
	стандартный	модифициро-	стандартный	модифициро-
	протокол	ванный	протокол	ванный
		протокол		протокол
		согласно		согласно
		разработан-		разработан-
		ному способу		ному способу
Объем элюата, мкл	50,0	50,0	50,0	50,0
Концентрация ДНК,	2,5–41,6	5,2–89,1	ниже предела	1,9–35,1
нг/мл	(Me=10,6)	(<i>Me</i> =22,2)	детекции	(Me=14,0)
Концентрация РНК,	40,2–195,0	77,1–454,0	ниже предела	25,9–193,0
нг/мл	(Me=63,8)	(Me=131,0)	детекции	(Me=103,0)

Из таблицы 6.9 следует, что количественные характеристики нуклеиновых кислот, экстрагированных модифицированным способом из образцов ногтевых пластин, удовлетворяют требованиям к образцам, предназначенным для выполнения ПЦР и ОТ-ПЦР. Это позволяет считать разработанный способ экстракции пригодным для использования в медико-биологических исследованиях, связанных с получением нуклеиновых кислот.

При определении возможности применения способа экстракции при практической работе с образцами ногтевых пластин проведена сравнительная оценка эффективности выделения нуклеиновых кислот методом ПЦР (n=30) и ОТ-ПЦР (n=30). Для сравнительного анализа использовались пробы нуклеиновых кислот, полученные согласно способам, взятым в качестве прототипа и сравнения в стандартном протоколе и модифицированном протоколе согласно разработанному способу.

В результате проведенных исследований установлено, что эффективность экстракции ДНК, оцениваемой по β-глобиновому гену человека, при применении разработанного способа выше, чем при применении стандартных протоколов исследований как для комплекта реагентов № 1, так и для комплекта реагентов № 2 (p<0.05). Наименьшая концентрация ДНК определена в пробах нуклеиновых кислот, экстрагированных из образцов ногтевых пластин согласно методике способа сравнения (M=2,70 lg копий ДНК/мл), а наибольшая концентрация ДНК – при помощи заявляемого решения, составлявшая в среднем 5,20 и 5,30 lg копий модифицированных ДНК/мл соответственно ДЛЯ протоколов разработанному способу исследований прототипа (комплект реагентов № 1) и сравнения (комплект реагентов № 2). Результаты сравнения концентраций ДНК, оцениваемой по β-глобиновому гену человека, в образцах биологического материала при использовании четырех различных способов представлены на рисунке 6.6.

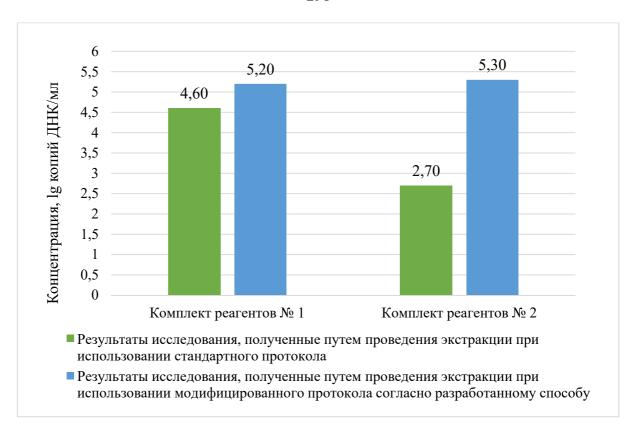


Рисунок 6.6 — Сравнение средней концентрации ДНК, выделенной из образцов ногтевых пластин при использовании различных способов экстракции

При изучении эффективности экстракции РНК исключено ингибирование прохождения ОТ-ПЦР, оцененное по эффективности амплификации экзогенного ВКО, при использовании четырех различных способов. Результаты сравнения концентраций ВКО, представляющего собой искусственно сконструированную последовательность РНК, встроенную в фаг ms2, в образцах биологического материала при использовании четырех различных способов экстракции представлены на рисунке 6.7.

Из рисунка 6.7 следует, что наименьшая концентрация РНК определена в пробах нуклеиновых кислот, экстрагированных из образцов ногтевых пластин согласно методике способа сравнения (М=4,33 lg копий РНК/мл), а наибольшая концентрация РНК – при помощи разработанного способа, составлявшая в среднем 5,01 и 5,28 lg копий РНК/мл соответственно для модифицированных протоколов

согласно разработанному способу исследований прототипа (комплект реагентов N_2 1) и сравнения (комплект реагентов N_2 2).

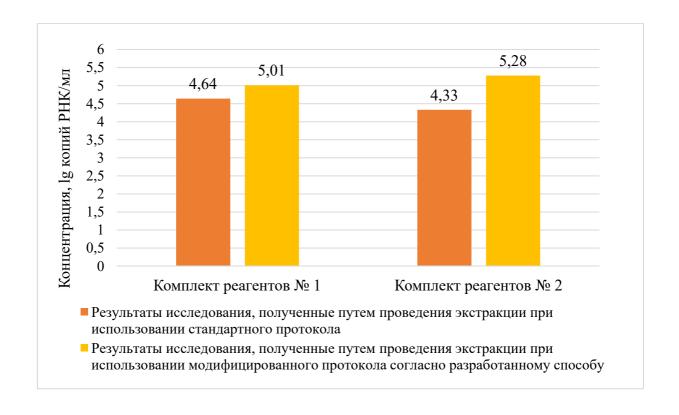


Рисунок 6.7 – Сравнение средней концентрации РНК ВКО при экстракции образцов ногтевых пластин различными способами

Таким образом, проведена научная разработка способа экстракции тотальной ДНК/РНК из образцов биологического материала — ногтевых пластин, с высокой концентрацией. Концентрация тотальной ДНК составляет до 89,1 нг/мл, тотальной РНК — до 454,0 нг/мл, то есть разработанный способ позволяет увеличить выход препарата тотальной ДНК/РНК не менее чем в 1,92 раза (не менее чем в 2,08 и 1,92 раза больше для ДНК и РНК соответственно). Отсутствие данных по ингибированию ферментативных реакций прохождения ПЦР и ОТ-ПЦР позволяет использовать как ДНК, так и РНК для последующих молекулярно-биологических исследований.

Решение, предлагаемое нами, является необходимым и достаточным для достижения поставленной задачи — экстракции ДНК/РНК, имеющих высокую

свободных ингибиторов, степень химической очистки, OT высокой концентрацией, пригодных для постановки ПЦР или ОТ-ПЦР и проведения дальнейших молекулярно-биологических исследований, в том числе и при подтверждении наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациентов. Представленные в Б дополнительно приложении примеры иллюстрируют возможности использования разработанного нами способа, но не ограничивают его применение.

Следует подчеркнуть, что разработанный способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин осуществим с применением стандартных технических устройств и оборудования и необходим в различных областях, например, практической медицине (клинико-лабораторная диагностика, медицинская генетика), криминалистической, судебно-медицинской практике (например, в рамках проведения ДНК-идентификации личности), генной дактилоскопии и др.

На разработанный способ экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин в установленном порядке в Российской Федерации 30 сентября 2020 года подана заявка № 2020132246 на патент. 12 июля 2021 года получен патент № 2751244 С1 Российская Федерация, МПК С12N 15/10, С12Q 1/68 «Способ экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин» [259].

Данный способ принят за основу при создании комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала. Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала с коммерческим названием «РИБО-преп» внедрен в производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, успешно прошел технические, клинические испытания и зарегистрирован в установленном порядке в Российской Федерации (РУ № ФСР 2008/03147 от 24 мая 2024 года) и за рубежом.

Правила взятия, транспортировки и хранения образцов ногтевых пластин для последующего анализа с помощью молекулярно-биологических методов были впервые сформулированы и представлены нами в методических рекомендациях «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» (2021), утвержденных на заседании Ученого совета ФБУН ЦНИИ

Эпидемиологии Роспотребнадзора 26 октября 2021 года [223], а также размещены в свободном доступе в мобильной версии методических рекомендаций https://prepcr.crie.ru/ [264].

Результаты проведенного исследования легли в основу базы данных «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» и программы для ЭВМ «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики».

На базу данных «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» в установленном порядке в Российской Федерации 22 декабря 2021 года подана заявка № 2021623223 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620002. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных — 10 января 2022 года [265].

На программу для ЭВМ «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» в установленном порядке в Российской Федерации 21 июня 2022 года подана заявка № 2022661251 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022661706. Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ — 24 июня 2022 года [266].

6.3 Разработка способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *Roseolovirus humanbeta6a/b*

В ходе проведения исследования по изучению феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в Российской Федерации выявлены наиболее явные проблемы, связанные с установлением наследуемого хиВГЧ-6a/b-статуса пациентов, касающиеся диагностики:

– сложность дифференциальной диагностики острой ВГЧ-6а/b-инфекции и носительства хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству;

– сложность диагностики заболеваний, связанных с активной ВГЧ-6а/b-инфекцией у пациентов с наследуемым хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b (эндогенными), и, соответственно, решения вопроса о необходимости проведения противовирусной терапии.

Это, в свою очередь, является следствием отсутствия ясности в клинической интерпретации результатов специфических методов амплификации нуклеиновых кислот и четком представлении о диагностическом значении концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в биологическом материале. Для решения выше обозначенного нами проведена разработка лабораторного способа выявления и подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b, то есть верификации наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6b-статуса, как у детей, так и взрослых.

Технический результат достигается за счет определения концентрации ДНК ВГЧ-6а/в в различных видах биологического материала пациента, а именно в образцах цельной крови, ногтевых пластин и / или волосяных фолликулов с помощью метода ПЦР-РВ. При определении концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в образце цельной крови в пределах от 4,77 до 5,37 lg копий/ 10^5 клеток, а также в образце ногтевых пластин – не менее 4,91 lg копий/ 10^5 клеток и / или в образце волосяных фолликулов — не менее $4,70 \lg$ копий/ 10^5 клеток верифицируют наличие наследуемого хиВГЧ-6a/b (R.humanbeta6a/b). Выявление в образце цельной крови ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации менее 4,77 или более 5,37 lg копий/ 10^5 клеток, а также в образцах ногтевых пластин и / или волосяных фолликулов менее 4,91 и 4,70 $\log 10^{-5}$ клеток, соответственно, позволяет исключить наличие (носительство) наследуемого хиВГЧ-6a/b (R.humanbeta6a/b) [267]. Исключение наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса (отсутствие наследуемого хиВГЧ-6а/b) обследуемого является основанием для дальнейшего диагностического поиска, направленного на уточнение стадии развития инфекционного процесса, а также решения вопроса о терапии. необходимости проведения противовирусной Для проведения исследования может быть использовано сочетание как двух, так и трех образцов биологического материала, одним из которых обязательно является цельная кровь.

Алгоритм выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомноинтегрированного *R.humanbeta6a/b* представлен на рисунке 6.8.

Лабораторное подтверждение наследственной передачи хиВГЧ-6а/b выполняется с помощью современных методов исследования. В основе способа обнаружения и количественной оценки ДНК вируса с помощью ПЦР-РВ лежит многократное копирование с помощью фермента ДНК-полимеразы определенного фрагмента ДНК, являющегося маркерным для данного вида возбудителя инфекционного заболевания. ПЦР является прямым методом выявления ДНК вируса и имеет высокую степень чувствительности. Метод ПЦР-РВ имеет целый ряд преимуществ, таких, как быстрота выполнения (2 часа для комбинированной амплификации и считывания), широкий диапазон линейности сигнала (меньше чем $10~{\rm K}~10^{8}$ геномных копий), получение всех флуоресцентных сигналов во время амплификации происходит без открывания реакционной пробирки, стабильность флуоресцентного зонда, наличие 96 лунок, что позволяет производить большие серии тестов [205].

В основе создания предложенного инновационного изобретения лежит исследование, проведенное за период с февраля 2017 года по февраль 2020 года, в ходе которого обследовано 104 человека в возрасте от 7 дней до 83 лет (*Me*=27 лет), 51,9% (54/104) мужчин и 48,1% (50/104) женщин. Среди обследованных: 51 (49,04%) пациент с высокими концентрациями ДНК ВГЧ-6а/b в крови (>3,5 lg копий/10⁵ клеток) и/или других видах биологического материала и 53 (50,96%) ближайших родственников пациентов с подозрением на хиВГЧ-6а/b-статус, передаваемый по наследству. Длительность клинико-лабораторного наблюдения составила от 1 до 13 месяцев. Исследование включало помимо клинического обследования общее лабораторное (общий клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови) и инструментальное (УЗИ) исследование.

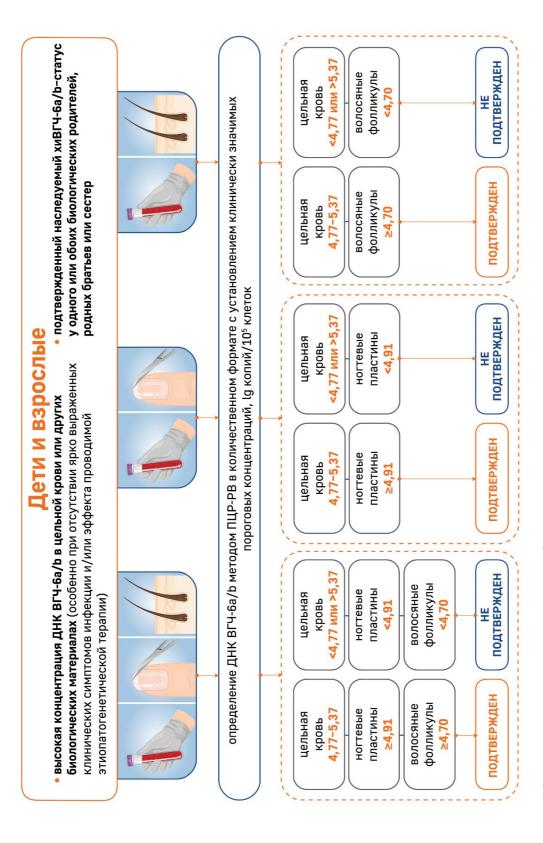


Рисунок 6.8 – Алгоритм выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного

R.humanbeta6a/b

В динамике проанализированы уровни вирусной нагрузки ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови (n=703), ногтевых пластин (n=150), волосяных фолликулов (n=120) методом ПЦР-РВ, а также иммунохимических маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции – специфических AT-IgG к AГ ВГЧ-6а/b (суммарные к АГ ВГЧ-6 обоих видов) в образцах сыворотки крови (n=208) обследуемых методом ИФА. Экстракцию тотальной ДНК из анализируемых образцов биологического материала (исключение - ногтевые пластины) осуществляли при помощи комплекта реагентов «РИБО-преп» для выделения ДНК/РНК из клинического 9398-071-01897593-2008 ТУ производства материала ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года), образцов ногтевых пластин – разработанного способа экстракции. Концентрацию ДНК ВГЧ-6а/b в различных образцах биологического материала определяли методом ПЦР-РВ с учетом результатов анализа в количественном формате с помощью набора реагентов «АмплиСенс® HHV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года). Постановку и анализ результатов амплификации выполняли на приборе для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года) в соответствии с инструкцией производителя. Расчет концентрации осуществляли в lg копий специфической ДНК вируса на стандартное количество (10⁵) клеток человека, оцененное по β-глобиновому гену, учитывая копийность искомых геновмишеней: однокопийный для специфической мишени вируса (участок ДНК генома ВГЧ-6а/b) и двухкопийный для β-глобинового гена (участок ДНК генома человека). Видовую идентификацию вирусов проводили на основании данных, полученных с помощью метода массового параллельного секвенирования. Выявление и количественное определение вирусоспецифических AT-IgG в образцах сыворотки крови, взятой с интервалом 14 дней, выполняли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к человеческому герпес-вирусу 6 типа в сыворотке (плазме) крови «ВектоННV-6-IgG» по ТУ 9398237-23548172-2010 (АО «Вектор-Бест», Российская Федерация РУ № ФСР 2011/09853 от 17 марта 2017 года). Постановку ИФА и последующий анализ полученных результатов осуществляли с использованием автоматического анализатора Freedom EVOlyzer 200 (TECAN Schweiz AG, Швейцария), согласно инструкции производителя. Концентрацию вирусоспецифических AT-IgG оценивали исходя из коэффициента позитивности: положительный результат \geq 1,0; пограничный — от \geq 0,8 до <1,0; отрицательный — <0,80.

Для подтверждения или опровержения наследственной передачи хиВГЧ-6а/b клинико-лабораторно обследовали ближайших родственников пациентов: биологических родителей, родных братьев и сестер (при наличии) и др.

Наследуемый хиВГЧ-6а/b лабораторно подтвержден у 12 из 51 (23,53%, 95% ДИ [14,0–36,76%]) обследованных пациентов с высокими концентрациями ДНК ВГЧ-6а/b в крови и 22 из 53 (41,51%, 95% ДИ [29,26–54,91%]) их ближайших родственников.

Специфические AT-IgG к AГ BГЧ-6а/b в сыворотке крови обследованных с хиВГЧ-6а/b-статусом обнаружены у 10 из 34 (29,41%, 95% ДИ [16,84–46,17%]) с коэффициентом позитивности от 1,19 до 12,39 (*Me*=3,71) без увеличения в динамике. Определение вирусоспецифических AT не позволило установить наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус, а указывало лишь на то, что на текущий момент произошло инфицирование экзогенным ВГЧ-6а/b, а их отсутствие, в свою очередь, свидетельствовало об обратном.

В целом, расшифровано 12 случаев внутрисемейной наследственной передачи эндогенного хиВГЧ-6а/b: 8 (66,67%, 95% ДИ [39,06–86,19%]) в двух и 4 (33,33%, 95% ДИ [13,81–60,94%]) в трех поколениях. Среди них: 10 (83,33%, 95% ДИ [55,20–95,30%]) случаев наследственной передачи хиВГЧ-6b: 7 (70,0%) в двух поколениях и 3 (30,0%) в трех поколениях, а также 2 (16,67%, 95% ДИ [4,7–44,80%]) случая наследственной передачи хиВГЧ-6a: 1 (50,0%) в двух поколениях и 1 (50,0%) в трех поколениях (рисунок 6.9).

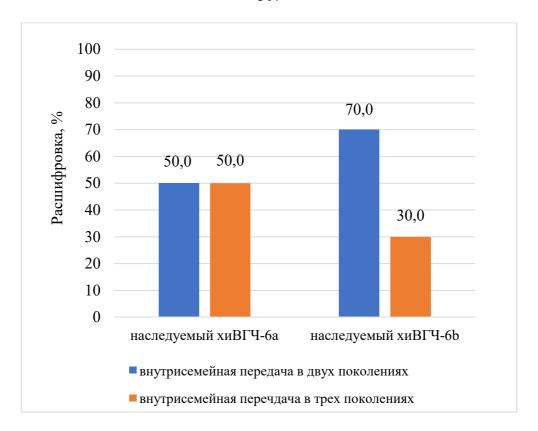


Рисунок 6.9 — Расшифровка случаев наследственной передачи хромосомноинтегрированного *R.humanbeta6a* и хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6b* у детей и взрослых с использованием современных диагностических и научнопоисковых методов

Распределение концентраций ДНК ВГЧ-6а/b в различных видах биологического материала пациентов с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом представлены в таблице 6.10.

Проведенный ретроспективно анализ анамнестических данных показал, что среди обследованных с клиническими признаками сходными с острой первичной ВГЧ-6а/b-инфекцией было 29,4%, без клинических признаков активной инфекции – 70,6% человек. Специфическую противовирусную терапию до установления хиВГЧ6а/b-статуса проводили 70% пациентам с высокими концентрациями ДНК ВГЧ-6а/b в крови, в том числе 60% – более 3–4 курсов лечения без положительного эффекта.

Таблица 6.10 — Распределение концентраций ДНК ВГЧ-6а/b в различных видах биологического материала пациентов с хиВГЧ-6а/b-статусом, lg копий/ 10^5 клеток

Показатель	Вид биологического материала		
	цельная	ногтевые	волосяные
	венозная кровь	пластины	фолликулы
	(n=107)	(n=90)	(n=89)
Медиана, <i>Ме</i>	5,03	5,49	5,06
Среднее, М	5,06	5,51	5,16
Среднеквадратичное отклонение, σ	0,12	0,24	0,18
Минимальное значение [99% ДИ]	4,77	4,91	4,70
Максимальное значение [99% ДИ]	5,37		

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлен и подтвержден наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус у 34 (32,69%, 95% ДИ [24,44-42,18%]) из 104 обследованных человек, среди которых пациенты с высокими концентрациями ДНК ВГЧ-6а/b в крови и их ближайшие родственники. Проведенное исследование позволило определить граничные значения концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин, волосяных фолликулов с 99% вероятностью свидетельствующие о наследуемой хромосомно-интегрированной эндогенной форме наличии существования вируса. А именно:

- концентрация ДНК ВГЧ-6а/b в образце цельной крови в пределах значений от 4,77 до 5,37 lg копий/ 10^5 клеток;
- концентрация ДНК ВГЧ-6a/b в образце ногтевых пластин в значении не менее 4,91 lg копий/10 5 клеток

и / или

- концентрация ДНК ВГЧ-6а/b в образце волосяных фолликулов в значении не менее 4,70 lg копий/ 10^5 клеток.

Соблюдение требований к технике сбора образцов ногтевых пластин, волосяных фолликулов у обследуемых лиц и введение критериев трактовки

определяемой концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в данных видах биологического материала позволили избежать затруднений в интерпретации результатов ПЦР-анализа, связанных с получением ложноположительных (контаминация исследуемых образцов другим видом биологического материала, например, слюной) и ложноотрицательных результатов (несоблюдение условий при сборе биологического материала).

В 100% случаев своевременное установление наследуемого хиВГЧ-бастатуса или хиВГЧ-6b-статуса являлось обоснованием для исключения активной BГЧ-6a/b, инфекции, вызываемой отмены проведения специфической противовирусной терапии (при ее наличии) и своевременного выбора оптимальной тактики ведения пациента. Возможность применения разработанного нами способа лабораторного подтверждения выявления наследуемого хромосомно-R.humanbeta6a/b интегрированного отражено клинических В примерах, представленных в приложении В. Представленные 4 клинических примера достоверно демонстрируют, что разработанный способ позволяет своевременно и точно выявить, лабораторно подтвердить хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b, передаваемый по наследству, как у детей, так и взрослых.

Таким образом, повышение точности метода диагностики и установление клинически значимых пороговых концентраций ДНК ВГЧ-6а/b в уникальном сочетании биологических образцов (цельная кровь, ногтевые пластины и / или волосяные фолликулы) пациента позволяет качественно ускорить выявление и лабораторное подтверждение хиВГЧ-6а или хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, у детей и взрослых, а также исключить гипердиагностику ВГЧ-6а/b-инфекции и назначение необоснованной противовирусной терапии. Выявление ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов только в качественном формате, а также исследование исключительно только этих видов биологического материала без параллельного тестирования образцов цельной крови пациента указанным методом, может приводить к затруднениям интерпретации получаемых данных лабораторного обследования, удлинению сроков диагностического поиска и даже к диагностическим ошибкам.

На разработанный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a/b* в установленном порядке в Российской Федерации 18 июня 2020 года подана заявка № 2020120283 на патент. 30 декабря 2020 года получен патент № 2739997 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/58, C12Q 1/686 «Способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6A/В» [267].

На базу данных «Расшифровка случаев внутрисемейной наследственной передачи хромосомно-интегрированных *Human betaherpesvirus* 6A и *Human betaherpesvirus* 6B» в установленном порядке в Российской Федерации 25 декабря 2020 года подана заявка № 2020622767 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620015. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных — 12 января 2021 года [268].

Важным аспектом изучения роли *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в развитии ВУИ, врожденной патологии является не только разработка методологии, лабораторной основы диагностики наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса, но и изучение распространенности хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации.

6.4 Изучение распространенности хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации

Изучение распространенности хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, в Российской Федерации выполнено в два этапа. На первом этапе проведено пилотное исследование в Московском регионе (объем выборки составил 262 человека), включающим город Москву и Московскую область, в дальнейшем (второй этап) география изыскания

расширена до 24 городов Центрального федерального округа нашей страны (объем выборки составил 4149 человек).

6.4.1 Распространенность хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Московском регионе (результаты пилотного исследования)

В 2017-2018 гг. в ходе выполнения пилотного исследования по изучению хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a распространенности *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, в Московском регионе [269] обследовано 262 условно здоровых мужчин (n=75) и женщин (n=187) в возрасте от 18 до 67 лет (Me=36 лет). Проведение ПЦР-исследования осуществлено аналогично описанному выше, включая использование разработанного способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин [259]. Наследуемый хиВГЧба/b-статус обследованных устанавливался с применением способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного Roseolovirus humanbeta6a/b [267]. У 15/262 человек в крови обнаружена ДНК ВГЧ-6а/ь, что составило 5,72% (95% ДИ [3,50–9,23%]) случаев. У 247/262 (94,28%, 95% ДИ [90,77-96,50%]) человек ДНК вируса в крови не обнаружена. При этом определяемая концентрация ДНК вируса В крови обследованных положительными результатами обнаружения ДНК ВГЧ-6а/b (15/262) варьировала в широких пределах: от 0,20 до 5,25 lg копий/ 10^5 клеток.

Как следует из рисунка 6.10, ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ в образцах цельной венозной крови 12/262 (4,58%) человек обнаружена в концентрации <1,0; у 2/262 (0,76%) -1,0–2,0 и 1/262 (0,38%) обследуемых ->5,0 lg копий/ 10^5 клеток.

Только в одном случае (женщина, 41 год) с высоким уровнем вирусной ДНК в цельной венозной крови (5,25 \lg копий/ 10^5 клеток) хиВГЧ-6b, передаваемый по наследству, установлен согласно представленному нами алгоритму при использовании инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b [267]. Видовая идентификация вируса

определена на основании данных, полученных при использовании метода массового параллельного секвенирования.

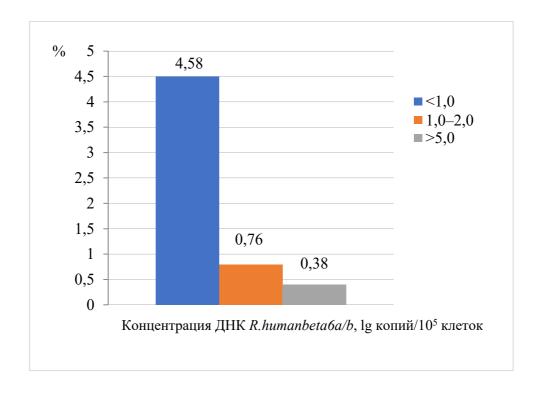


Рисунок 6.10 — Частота выявления различных концентраций ДНК *R.humanbeta6a/b* в образцах цельной венозной крови методом ПЦР-РВ, %

Для расшифровки данного случая наследственной передачи проведено обследование трех ближайших родственников женщины с хиВГЧ-6b-статусом (далее именуемые семья F5): двое мужчин и женщина в возрасте 21 года, 50 и 69 лет соответственно. Необходимо подчеркнуть, что на момент лабораторного обследования все пациенты были условно здоровы и жалоб не предъявляли. Отца женщины с наследуемым хиВГЧ-6b-статусом обследовать не удалось, а у ее супруга проведено исследование образцов цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин методом ПЦР-РВ. Данные, полученные в результате лабораторного обследования, представлены в таблице 6.11.

Таблица 6.11 — Концентрация ДНК ВГЧ-6b в различных видах биологического материала членов семьи с хиВГЧ-6b, передаваемым по наследству, определенная с помощью метода ПЦР-РВ, Ід копий ДНК ВГЧ-6b/10⁵ клеток человека

Вид	Обследованные пациенты				
биологического	женщина	супруг	мать	отец	сын
материала	(MOW-F5M)		(MOW-		(MOW-F5C)
			F5MM)		
Цельная	5,25	не обнару-	5,22	н/и	5,29
венозная кровь		жено			
Мазок со	5,44	н/и	5,38	н/и	5,66
слизистой					
оболочки					
ротоглотки					
Моча	5,44	н/и	5,37	н/и	5,67
Волосяные	5,85	не обнару-	5,47	н/и	5,44
фолликулы		жено			
Ногтевые	5,59	не обнару-	6,39	н/и	6,10
пластины		жено			
Примечание – Н/и – исследование не проводили					

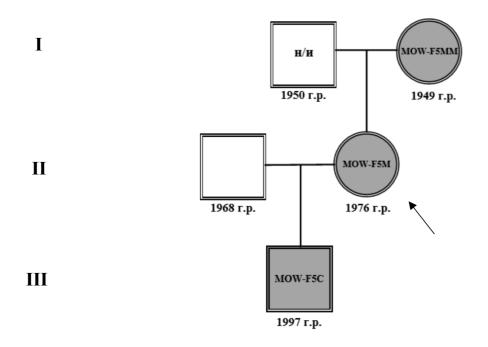
Из таблицы 6.11 видно, что у трех из четырех обследуемых членов одной семьи удалось подтвердить наследуемую хромосомную интеграцию вируса. Установление хиВГЧ-6а/b-статуса, передаваемого по наследству, основано на количественном определении вирусной ДНК в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин методом ПЦР-РВ согласно разработанному инновационному способу выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a/b* [267].

Концентрация ДНК эндогенного вируса у обследуемых с хиВГЧ-6bстатусом, передаваемым по наследству, (женщины, выявленной ранее в ходе скрининга, ее матери и сына) в зависимости от вида исследуемого биологического материала составляла: цельная венозная кровь $-5,25\pm0,04$; мазки со слизистой оболочки ротоглотки $-5,49\pm0,15$; моча $-5,49\pm0,16$; волосяные фолликулы $-5,59\pm0,23$; ногтевые пластины $-6,03\pm0,41$ lg копий ДНК ВГЧ-6b/ 10^5 клеток. У супруга – отсутствие ДНК ВГЧ-6a/b в образцах цельной венозной крови, волосяных фолликулов и ногтевых пластин полностью исключило его хиВГЧ-6a/b-статус. Ввиду данного факта дальнейшее исследование других видов биологического материала у него было признано нецелесообразным.

Таким образом, на основании полученных нами данных хиВГЧ-6b, передаваемый по наследству, обнаружен нами и подтвержден ПЦР-анализом в трех поколениях: мать – дочь – внук (рисунок 6.11).

Для подтверждения или опровержения гипотезы о высокой схожести трех клинических эндогенных изолятов наследуемого хиВГЧ-6b женщины (МОW-F5M), ее сына (МОW-F5C) и матери (МОW-F5MM) между собой, проведена их углубленная генетическая характеристика.

В результате полногеномного секвенирования для образцов MOW-F5M, MOW-F5C, MOW-F5MM получены консенсусные последовательности протяженностью 146 925 нуклеотидов, которые на 90% воспроизводили полногеномную последовательность R.humanbeta6b, передаваемого по наследству. Неотсеквенированные регионы относились к фланкирующим участкам (DR), содержащих повторяющиеся последовательности. В ходе аннотации геномов изучаемых клинических эндогенных изолятов выявлено 100 кодирующих открытых рамок считывания (CD_S). В целом проведенное сравнение белоккодирующих генов между тремя российскими клиническими эндогенными изолятами хиВГЧ-6b и референс-геномами ВГЧ-6b позволило определить схожее соотношение общего количества кодирующих открытых рамок считывания. Более того, при непосредственном сравнении нуклеотидных последовательностей набора ортологичных генов трех геномов MOW-F5M, MOW-F5C, MOW-F5MM между собой не выявлено различий (инсерций, делеций, однонуклеотидных вариаций), что свидетельствовало об их 100% схожести и подтверждало наследственную передачу хиВГЧ-6b.

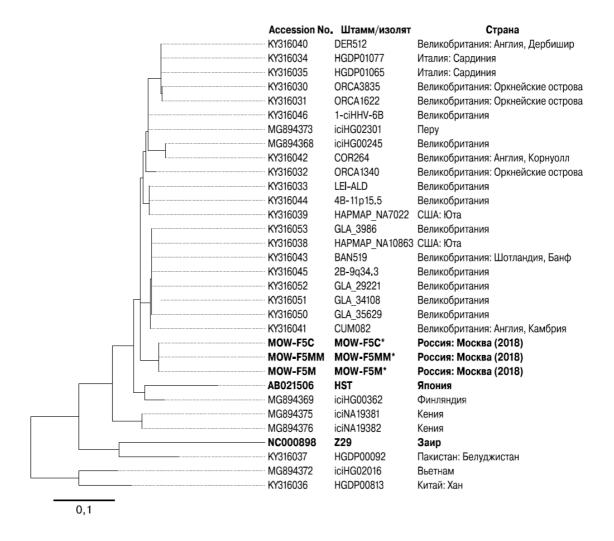


— наследуемый хиВГЧ-6b-статус подтвержден; — наследуемый хиВГЧ-6b-статус не подтвержден;

н/и – обследование не проводилось

Рисунок 6.11 – Наследственная передача хиВГЧ-6b у членов семьи F5 в трех поколениях

При изучении филогенетического положения геномов трех российских клинических изолятов хиВГЧ-6b в контексте глобального генетического разнообразия ВГЧ-6b в мире проведен филогенетический анализ на основе сравнения профилей нуклеотидных вариаций, выявленных среди 29 геномов эндогенных штаммов/изолятов (МОW-F5M, MOW-F5MM, MOW-F5C и 26 ранее депонированных в международную базу данных NCBI [224]) и 2 эталонных экзогенных штаммов ВГЧ-6b [224] (рисунок 6.12).



 Π р и м е ч а н и е — Полужирным шрифтом обозначены эталонные экзогенные штаммы ВГЧ-6b (*R.humanbeta6b*); полужирным шрифтом и * — российские клинические изоляты хиВГЧ-6b, передаваемого по наследству

Рисунок 6.12 — Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия на основе выявленных нуклеотидных вариаций в последовательностях относительно последовательности референс-генома эталонного экзогенного штамма HST *R.humanbeta6b* (асс. AB021506) [270]

Общее число позиций, содержащих филогенетически значимые вариации, составило 1240. Филогеномный анализ показал, что российские клинические изоляты MOW-F5M, MOW-F5C, MOW-F5MM, выделенные в городе Москве в 2018 г., принадлежали к ВГЧ-6b и образовали уникальную монофилитическую ветвь в

пределах клады, в которую вошли преимущественно изоляты хиВГЧ-6b, передаваемые по наследству из европейской части света (рисунок 6.12).

При проведении опроса женщины с наследуемым хиВГЧ-6b-статусом установлено, что ее ближайшие родственники по материнской линии (бабушка и дедушка), а также их прародители родом из Владимирской области, Судогодского района, деревень: Бахтино (бабушка) и Смыково (дедушка). Достоверных официальных данных по их состоянию здоровья и причине смерти получить не удалось.

Таким образом, нами в результате проведенного пилотного исследования впервые получены предварительные данные о частоте выявления хромосомноинтегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации. Установлена распространенность наследуемого хиВГЧ-6b среди условно здоровых лиц в Московском регионе -0.38% (1/262, 95% ДИ [0.07– 2,13%]). ХиВГЧ-6b, передаваемый по наследству, обнаружен и лабораторно подтвержден в трех поколениях. Проведенный нами филогеномный анализ российские показал, выделенные клинические эндогенные что изоляты сформировали уникальную монофилитическую ветвь В пределах клады преимущественно с изолятами хиВГЧ-6b из Европы. При проведении пилотного исследования распространенность хиВГЧ-ба, передаваемого по наследству, в Московском регионе установить не удалось, что в большей мере обусловлено недостаточностью количественной репрезентативности выборки.

Нуклеотидная последовательность клинического изолята *R.humanbeta6b* MOW-F5C, полученная в ходе данного пилотного исследования, депонирована в международную базу данных NCBI [224] под номером MN242397.1 [271].

6.4.2 Распространенность хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации

Предварительный расчет необходимого размера выборки исследования при изучении распространенности хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации показал, что при среднемировой частоте распространенности, составляющей $\sim 1,0\%$ [162], необходимо обследовать не менее 1000 человек при ожидаемой вероятности равной 100% (приложении Γ). В ходе выполнения данного этапа диссертационной работы всего лабораторно обследовано 4149 доноров крови (59% мужчин, 41% женщин) в возрасте 18–70 лет (Me=35 лет), проживающих в 24 городах Центрального федерального округа: Москве, 21 городе Московской области, Рязани, Туле.

ДНК ВГЧ-6а/b выявляли методом ПЦР-РВ в количественном формате вначале в пулах из 10 образцов плазмы или цельной крови, а затем в отдельных образцах цельной крови из пулов с высокой вирусной нагрузкой. Наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус обследуемых устанавливали на основании данных цифровой капельной ПЦР, исследования образцов цельной венозной крови и волосяных фолликулов или ногтевых пластин с интерпретацией результатов согласно инновационному способу выявления и лабораторного подтверждения наследуемого Roseolovirus humanbeta6a/b [267]. Проведение ПЦР-исследования осуществлено аналогично описанному выше, включая применение разработанного способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин [259].

Из 415 исследуемых пулов образцов плазмы или цельной крови выявлено 13 отдельных образцов с концентрацией ДНК ВГЧ-6а/b равной 4,98±0,17 lg копий/10⁵ клеток крови. ХиВГЧ-6а, передаваемый по наследству, обнаружен у 4/4149 (0,10%, 95% ДИ [0,04–0,25%]) доноров крови из городов: Балашиха (Московская область), Егорьевск (Московская область), Сергиев Посад (Московская область), Тула. Наследуемый хиВГЧ-6b — у 9/4149 (0,22%, 95% ДИ [0,11–0,41%]) человек из городов: Москва, Егорьевск (Московская область), Ногинск (Московская область), Орехово-Зуево (Московская область), Подольск (Московская область), Чехов (Московская область), Рязань, Тула (таблица 6.12).

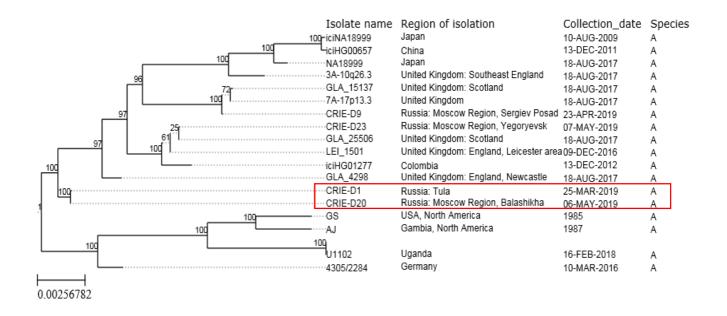
Таблица 6.12 – Изучение распространенности хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, среди доноров крови в центральном регионе европейской части Российской Федерации

Вид	Показатель			
	обнаружено,	гендерная	регион, город	
	абс. (%)	характеристика,		
		абс. (%)		
R.humanbeta6a	4/4149 (0,10%)	мужчины 4 (100%)	Балашиха (Московская	
		женщины 0 (0%)	область), Егорьевск	
			(Московская область), Сергиев	
			Посад (Московская область),	
			Тула	
R.humanbeta6b	9/4149 (0,22%)	мужчины 5 (55,6%)	Москва, Егорьевск	
		женщины 4 (44,4%)	(Московская область), Ногинск	
			(Московская область),	
			Орехово-Зуево (Московская	
			область), Подольск	
			(Московская область), Чехов	
			(Московская область), Рязань,	
			Тула	

Видовая принадлежность и последовательности геномов российских клинических эндогенных изолятов вирусов определены с помощью метода массового параллельного секвенирования.

При изучении филогенетического положения геномов выделенных российских клинических изолятов хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b в контексте глобального генетического разнообразия ВГЧ-6а и ВГЧ-6b в мире проведен филогенетический анализ. Филогенетическая реконструкция основывалась на установлении ортологичных нуклеотидных полиморфизмов между секвенированными геномами и геномами *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, депонированными в международную базу данных NCBI [224], путем картирования прочтений или нуклеотидных

последовательностей на референс-геном аналогично описанному ранее. Проведенный филогеномный анализ изучаемых изолятов показал их генетическое разнообразие в пределах европейской клады. Каждый из 11 изолятов занимал уникальную филогенетическую позицию и только 2 изолята (наследуемые хиВГЧ-6а, выделенные в городах Балашихе (Московская область) и Туле) были сгруппированы вместе (рисунок 6.13).



П р и м е ч а н и е — Рамкой красного цвета ограничены российские клинические эндогенные изоляты хиВГЧ-6а, выделенные в ходе изучения распространенности хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, в центральном регионе европейской части Российской Федерации; цифра 100 — значение бутстрэп-анализа (достоверность формирования клады)

Рисунок 6.13 — Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия на основе выявленных нуклеотидных вариаций в последовательностях относительно референс-генома эталонного экзогенного штамма U1102 *R.humanbeta6a* (acc. X83413) [233]

Таким образом, нами в результате проведенного исследования впервые получены расширенные данные по распространенности хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, в

Российской Федерации. Установлена распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* среди доноров крови центрального региона европейской части Российской Федерации (n=4149) составила 0,32% (95% ДИ [0,18–0,54%]), в том числе хиВГЧ-6а – 0,10% (4/4149; 95% ДИ [0,04–0,25%]) и хиВГЧ-6b – 0,22% (9/4149; 95% ДИ [0,11–0,41%]). Лица с хиВГЧ-6b-статусом выявлялись в 2,25 раза чаще, чем с хиВГЧ-6а-статусом (69,23% и 30,77% соответственно). На основании данных филогеномного анализа показано генетическое разнообразие российских клинических изолятов хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству (эндогенных) в пределах европейской клады.

Для анализа распространенности и определения частоты носительства наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b в Российской Федерации и мире, географической стратификации и генетического разнообразия вирусов создана онлайн-платформа «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b» (рисунок 6.14).

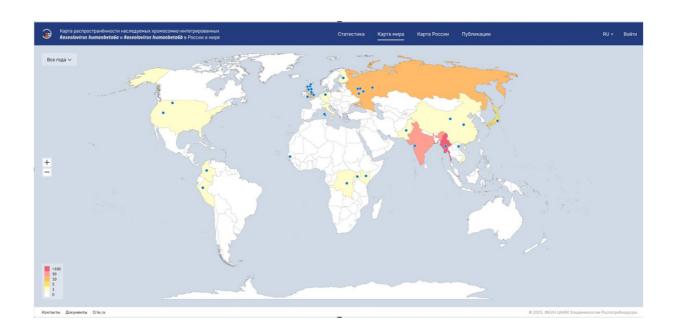


Рисунок 6.14 — Интерфейс онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b»

В основе создания онлайн-платформы лежит разработка прикладного программного обеспечения (2 программы для ЭВМ) и формирование базы данных по результатам проведенного диссертационного исследования в рамках четвертой задачи. Программы для ЭВМ являются онлайн-приложением. Структура базы данных онлайн-платформы представлена на рисунке 6.15.

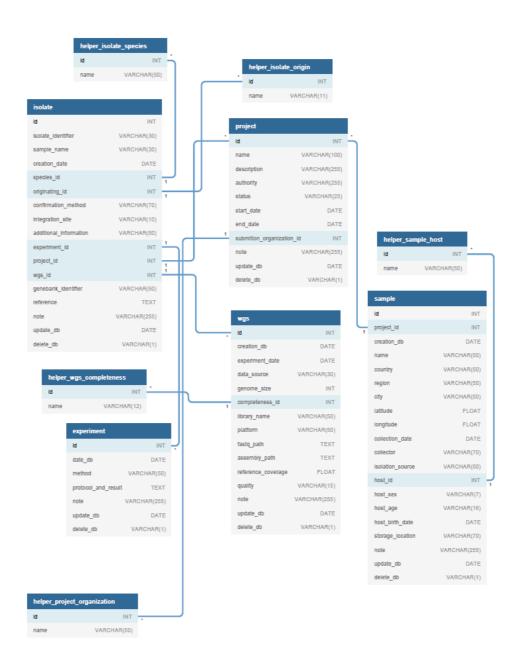


Рисунок 6.15 – Диаграмма связей информационных объектов базы данных, разработанной в рамках создания онлайн-платформы «Карта распространенности

наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b»

Созданный ресурс позволяет в онлайн-режиме проводить сбор, анализ, систематизацию, хранение и дальнейшую визуализацию полученных данных о выделенных в Российской Федерации и мире клинических изолятах, штаммах наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b (эндогенных), включая следующие сведения: видовая принадлежность вируса (*R.humanbeta6a* или *R.humanbeta6b*), сайт интеграции, источник, дата и регион выделения с географическими координатами, данные по результатам и методам, использованным при исследовании.

Для удобства работы с систематизированной информацией предусмотрена система фильтрации, которая выполняется автоматически в зависимости от заданных оператором параметров. Инструментарий ресурса позволяет работать с внесенными данными как в режиме просмотра, так и в режиме редактирования. На рисунке 6.16 представлен пример интерфейса раздела, предназначенного для внесения данных, в режиме просмотра.

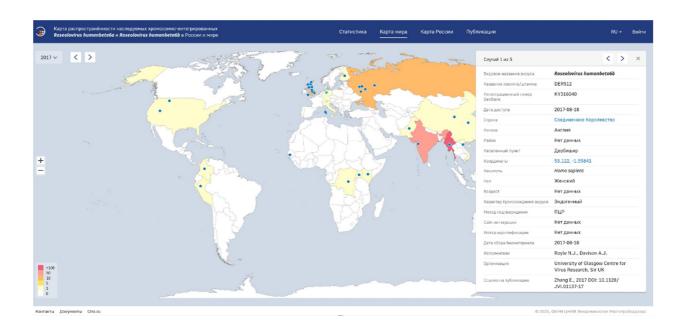


Рисунок 6.16 – Интерфейс раздела, предназначенного для внесения данных, онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых

хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b» (режим просмотра)

На рисунке 6.17 представлен пример интерфейса раздела, предназначенного для внесения данных, в режиме редактирования.

<u></u>	Карта распространённости наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbetośe и Roseolovirus humanbetośb в России и мире		Статистика Карта мира Карта России	Публикации	RU ▼ Войти	
		Добавление	данных		* Поля обязательные для заполнения	
		изолят/штамм	Видовое название вируса* Название изолята/штамма*	Дипускетскі использавать тапько катинняду, цабры и знаки прити	Nament (xpone 1 n ?)	
			Характер происхождения вируса*		~	
			Сайт интеграции*		~	
			Метод подтверждения наследуемой хромосомной интеграции*		~	
			Метод идентификации сайта интеграции*		~	
			Заметка к изоляту/штамму	RU:		

Рисунок 6.17 — Интерфейс раздела, предназначенного для внесения данных, онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрируемых *Roseolovirus humanbeta6a* и *Roseolovirus humanbeta6b*» (режим редактирования)

На программы для ЭВМ «Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных *Нитап betaherpesvirus* 6А и *Нитап betaherpesvirus* 6В в мире» и «Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных *Нитап betaherpesvirus* 6А и *Нитап betaherpesvirus* 6В в Российской Федерации» в установленном порядке в Российской Федерации 30 июня 2021 года поданы заявки № 2021660161 и № 2021660144, соответственно, на государственную регистрацию. По заявкам получены свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021660924 и № 2021661481 соответственно. Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ — 05 июля 2021 года [272] и 12 июля 2021 года [273].

Ha базу данных «Распространенность наследуемого хромосомноинтегрированного Human betaherpesvirus 6A/B» в установленном порядке в Российской Федерации 16 декабря 2020 года подана заявка № 2020622680 на По государственную регистрацию. заявке получено свидетельство государственной регистрации базы данных № 2020622759. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных – 22 декабря 2022 года [240].

Таким образом, в результате выполнения диссертационного исследования, Российской Федерации осуществлена расшифровка внутрисемейной наследственной передачи хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a и хромосомно-интегрированного R.humanbeta6b. В том числе, впервые в Российской Федерации выявлена и лабораторно подтверждена наследственная передача хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a* в трех поколениях с определением сайта интеграции (17р хромосома) методом ПЦР с секвенированием ПО Сэнгеру, проведено последующим полногеномное секвенирование двух клинических изолятов наследуемых хиВГЧ-6а (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика (100%) схожесть при сравнении набора ортологичных генов). А также впервые в Российской Федерации выявлена и лабораторно подтверждена наследственная передача хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6b* в двух поколениях от отца двум детям (девочке и мальчику) из двойни. Разработаны, апробированы, валидированы два авторских уникальных инновационных способа: способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин, способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a/b. А также апробированы: лабораторная методика количественного определения ДНК R.humanbeta6a/b на основе цифровой капельной ПЦР, которая может в дальнейшем рассматриваться как перспективное направление при хиВГЧ-6а/b-статуса обследуемых, установлении лабораторная методика полногеномного секвенирования геномов *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*. Внедрение указанных способов в практическую деятельность ФБУН ЦНИИ Эпидепиологии Роспотребнадзора позволило получить первые данные по

распространенности хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству в Российской Федерации. Установлена частота выявления наследуемого хиВГЧ-6b среди условно здоровых лиц в Московском регионе -0.38% (1/262, 95% ДИ [0.07– 2,13%]). Показана распространенность наследуемых хромосомноинтегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* среди доноров центрального региона европейской части Российской Федерации – 0,32% (95% ДИ [0,18-0,54%]), в том числе хиВГЧ-6а -0,10% (4/4149; 95% ДИ [0,04-0,25%]) и хиВГЧ-6b -0.22% (9/4149; 95% ДИ [0,11-0.41%]). Лица с хиВГЧ-6b-статусом выявлялись в 2,25 раза чаще, чем с хиВГЧ-ба-статусом (69,23% и 30,77%) соответственно). Впервые в Российской Федерации проведено полногеномное секвенирование трех клинических изолятов наследуемых хиВГЧ-6b (эндогенного) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика. А также осуществлен филогеномный анализ 17 клинических изолятов наследуемых хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a (n=7) и R.humanbeta6b (n=10) (эндогенных), выделенных в Российской Федерации, и показано их генетическое разнообразие. Для повышения эффективности сбора, анализа, систематизации, хранения и дальнейшей визуализации полученных данных по распространенности хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6ь создана онлайн-платформа наследуемых «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b», находящаяся в открытом доступе. Данная платформа предназначена для изучения генетического разнообразия наследуемых эндогенных хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, их распространенности и географической стратификации в стране и мире.

Нами впервые предложена методология изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, включающая основные компоненты лабораторной диагностики наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса с научно обоснованным применением молекулярно-биологических методов исследования (ПЦР-РВ, цифровая капельная ПЦР, массовое параллельное секвенирование). Внедрение представленных решений, а именно комплекса разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых

методов способствует с одной стороны масштабированию исследований, проводимых в рамках изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, в том числе определения этиологической роли вирусов в развитии ВУИ и врожденной патологии, а также дальнейшего изучения особенностей популяции эндогенных хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, а с другой демонстрирует высокое практическое значение для качественного повышения эффективности лабораторной диагностики ВГЧ-6а/b-инфекции и снижения продолжительности диагностического поиска при проведении этиологической диагностики инфекционных заболеваний, как у детей, так и взрослых, а также предоставлении достоверных данных в рамках информационной подсистемы эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями в Российской Федерации.

ГЛАВА 7. ОПТИМИЗАЦИЯ МОНИТОРИНГА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ Т₀RCH-ИНФЕКЦИЙ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ И ОЦЕНКА ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ВНЕДРЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ

При оптимизации мониторинга этиологической структуры врожденных инфекций ToRCH-группы на основе применения молекулярно-биологических методов исследований необходимо учитывать экономическую целесообразность внедрения предлагаемых решений.

В целях сокращения затрат системы здравоохранения и оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы проведен анализ экономической значимости выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b у новорожденных на примере города Москвы Центрального федерального округа.

Для осуществления расчета экономической значимости разработана программа для ЭВМ [236], осуществляющая взаимосвязь между набором логически последовательных, но при этом независимых источников и баз данных, сгруппированных в единую ER-диаграмму. Основные блоки ER-диаграммы содержали следующие сведения:

- официальные статистические данные о заболеваемости ВУИ в городе Москве Центрального федерального округа за период с 2016 по 2000 гг. [форма №2 Федерального государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»];
 - данные по распространенности наследуемого хиВГЧ-6а/b в мире [151,162];
- результаты анализа официальных нормативных документов по диагностике, лечению ВУИ;
 - экспертные оценки;
 - результаты фармакоэкономического и маркетингового анализа;

- расчетная величина абсолютного количества пациентов с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом в регионе за выбранный период времени и стоимости выявления и лабораторного подтверждения наличия у зарегистрированных пациентов наследуемого хиВГЧ-6а/b при использовании инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b [267];
 - расчетная величина предотвращенного экономического ущерба;
- расчетная величина экономической эффективности внедрения предложенного способа в практическое здравоохранение для совершенствования эпидемиологического надзора за ToRCH-инфекциями в регионе (рисунок 7.1).

Последовательные расчеты с использованием разработанной ЕR-диаграммы включали в себя три этапа: определение видов и структуры прямых затрат на диагностику и лечение врожденных инфекций ТоRCH-группы (первый этап), расчет их экономических характеристик (второй этап) и оценку величины возможного предотвращенного экономического ущерба при использовании инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b-статуса у новорожденных с ВУИ для оптимизации эпидемиологического надзора за ТоRCH-инфекциями на основе научно-обоснованного подхода с учетом экономической составляющей (третий этап).

7.1 Определение и анализ структуры прямых затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в городе Москве

На первом этапе проведена оценка и анализ структуры прямых затрат на диагностику и лечение ВУИ вирусной этиологии у новорожденных в городе Москве Центрального федерального округа по данным за 2020 г.

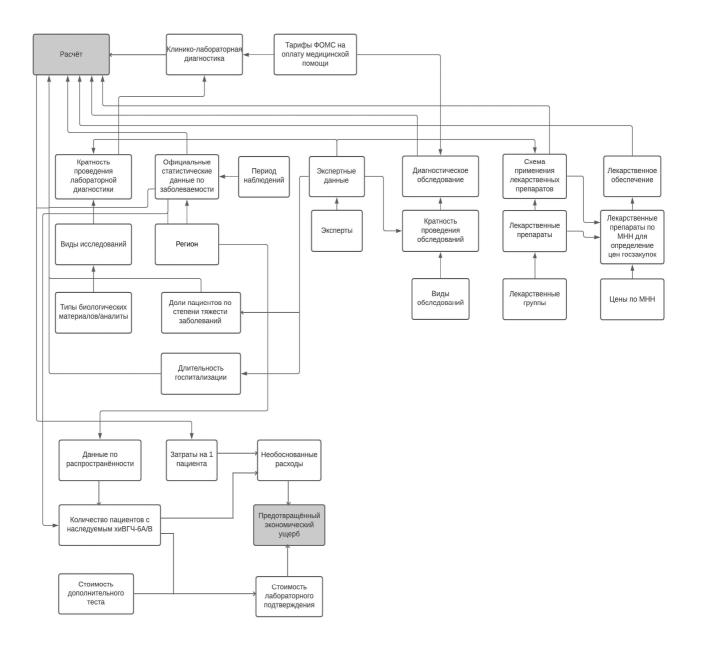


Рисунок 7.1 — ER-диаграмма оценки экономической значимости выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b у новорожденных

В связи с тем, что на момент начала данного исследования в Российской Федерации отсутствовал утвержденный в установленном порядке отдельный протокол лечения детей, больных ВГЧ-6а/b-инфекцией, за основу при разработке экспертных анкет взят ближайший прототип — клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным ЦМВИ [274]. Выбор в качестве прототипа данных клинических рекомендации обосновывался рекомендациями экспертов, а также высокой таксономической близостью ЦМВ и

ВГЧ-6а, ВГЧ-6b, относящихся к одному подсемейству *Betaherpesvirinae* семейства *Orthoherpesviridae* [275], близостью клинической картины и схем лечения для врожденной ЦМВИ и ВГЧ-6а/b-инфекции.

Для определения структуры прямых медицинских затрат на стационарное лечение новорожденных при постановке диагноза инфекционной болезни, специфичной для перинатального периода (Р35.0 Синдром врожденной краснухи, Р35.1 Врожденная цитомегаловирусная инфекция, Р35.2 Врожденная инфекция, вызванная вирусом простого герпеса [herpes simplex], P35.3 Врожденный вирусный гепатит, Р35.8 Другие врожденные вирусные инфекции) нами разработаны экспертные анкеты. Экспертные анкеты включали в себя следующие сведения: характеристики экспертов профессиональные (качественные показатели, абсолютные значения); количество новорожденных, обследованных в 2016–2020 гг. в лечебных отделениях, где эксперты выполняли свою трудовую деятельность (абсолютные значения); распределение новорожденных по степеням тяжести течения заболевания (%); средняя продолжительность стационарного лечения в зависимости от степени тяжести заболевания (абсолютные значения); группы лекарственных препаратов и лекарственные препараты по МНН, суточные дозировки и продолжительность курса терапии в зависимости от степени тяжести заболевания (качественные показатели, абсолютные значения); виды и объем (кратность) клинико-лабораторных исследований в зависимости от степени тяжести заболевания (абсолютные значения); виды и объем (кратность) инструментальных и других медицинских мероприятий (абсолютные значения) (приложение Д).

Первичный выбор независимых экспертов проведен основе на сформулированных квалификационных требований (профильное образование, квалификационная категория, наличие ученой степени, общий стаж работы по специальности и стаж работы в неонатологии и педиатрии (лет), регион выполнения профессиональных обязанностей (город Москва), отношение к участников профессионального различным научным школам), отзывов медицинского сообщества, работающих с ВУИ в ежедневном режиме, научных

публикаций в открытых медицинских периодических изданиях, личного опыта. Предложение участия в анкетировании приняли 5 из 7 (71,4%) экспертов. Все согласившиеся принять участие в исследовании эксперты имеют профильное высшее медицинское образование, специальность по диплому «врач-педиатр», высшую квалификационную категорию по специальности «неонатология» или «педиатрия», являются независимыми представителями двух отечественных научных школ и выполняют свои профессиональные обязанности в четырех крупных лечебных учреждениях Московского региона: ГАУЗ МО «Химкинская областная больница, ГБУЗМ Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова ДЗМ, ГБУЗ «ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ», ГБУЗ «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ». Стаж практической деятельности экспертов в медицинских организациях составлял на момент сбора данных от 25 до 36 лет, общий стаж работы экспертов в неонатологии и педиатрии – 149 лет. 4 из 5 (80,0%) приглашенных экспертов также вели преподавательскую деятельность в образовательных учреждениях высшего образования медицинского профиля Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2 из 5 (40,0%) эксперта имели ученую степень «кандидат медицинских наук», 3 из 5 (60,0%) – «доктор медицинских наук». Ученое звание «доцент» имеют 3 из 5 (60,0%) экспертов, а 2 из 5 (40,0%) – «профессор». Указанные выше квалификационные характеристики экспертов позволили рассматривать представленные в экспертных анкетах данные как достоверные и независимые.

За 2016—2020 гг. в отделениях ЛПУ, сотрудниками которых являлись эксперты, обследовано 6540 новорожденных и назначено лечение для 381 новорожденных с ВУИ. Анализ данных пятилетнего наблюдения показал, что доля новорожденных с диагностированной (лабораторно-подтвержденной) врожденной ВГЧ-6а/b-инфекцией составила 1,84% (95% ДИ [0,89—3,74%]); 7 из 381 обследованных новорожденных с ВУИ). При этом у 2 из 7 (28,57%; 95% ДИ [8,22—64,11%]) новорожденных с врожденной ВГЧ-6а/b-инфекцией в последствии установлен наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус. У 5 из 7 (71,43%; 95% ДИ [35,89—91,78%]) новорожденных данное исследование не проводилось и их наследуемый хиВГЧ-

6а/b-статус неизвестен (рисунок 7.2). Случаи врожденных микст-инфекций (этиологические агенты ВГЧ-6а/b и другие вирусами герпеса человека) не зарегистрированы.

По данным экспертных оценок среднее распределение новорожденных с ВУИ по степеням тяжести течения заболевания было представлено следующим образом: легкая – 20,0%, среднетяжелая – 70,0%, тяжелая – 10,0%. Степень тяжести течения заболевания у новорожденных определялась экспертами в процессе своей профессиональной деятельности согласно общепринятым утвержденным критериям. Необходимость распределения по степеням тяжести течения заболевания (легкая, среднетяжелая, тяжелая) продиктована зависимостью выбора анализируемых в дальнейшем данных в зависимости от следующих показателей: вида и объема (кратности) клинико-лабораторных исследований; вида и объема (кратности) инструментальных и других медицинских мероприятий; назначаемых лекарственных препаратов и продолжительности курса терапии; средней продолжительности стационарного лечения новорожденных.

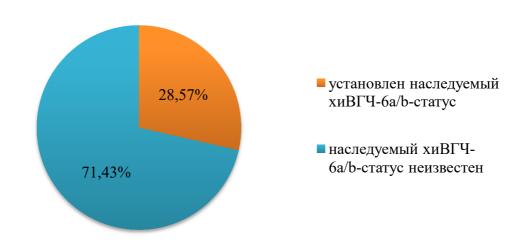


Рисунок 7.2 — Распределение новорожденных с врожденной ВГЧ-6а/b-инфекцией, находящихся на стационарном лечении в трех ЛПУ города Москвы в 2016—2020 гг., в зависимости от их наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса (n=381)

Средняя продолжительность пребывания новорожденного в стационаре составила при легкой степени тяжести — 14, среднетяжелой — 21 и тяжелой форме BVH - 28 дней.

В клинической практике выбор лекарственных препаратов в рамках проводимой терапии обусловлен тяжестью заболевания, а также наличием и характером осложнений. В условиях стационара лечение среднетяжелых и тяжелых форм ВУИ вирусной этиологии, осложненных бактериальной инфекцией у новорожденных включает антибактериальную (например, чередование или антибактериальных последовательное назначение препаратов, амоксициллин и клавулановая кислота, цефотаксим, цефтриаксон, ванкомицин) и дезинтоксикационную (например, растворы для инфузий, включающие калия хлорид, кальция хлорид, магния хлорид, натрия ацетат, натрия хлорид или калия хлорид, натрия ацетат, натрия хлорид) терапии [276], а выбор препаратов для этиотропного лечения продиктован природой возбудителя и возрастными рекомендациями. Комплексная терапия, особенно среднетяжелых и тяжелых форм ВУИ, включает в себя дорогостоящие препараты, такие как внутривенные иммуноглобулины, в том числе с большим количеством нежелательных реакций и побочных эффектов (например, значительной токсичностью, включая миело-, нейро- и нефротоксичность для ганцикловира), а также длительные курсы интерферонотерапии.

Предложенная экспертам анкета, включала 55 наименований лекарственных препаратов по МНН, 88 видов клинико-лабораторных исследований, 13 видов обследований инструментальных И других медицинских мероприятий (приложение Д). Обработка и анализ данных, представленных экспертами, включал нормирование, редактирование и статистическую обработку. В ходе обработки экспертных анкет исключены наименования по МНН 33 лекарственных 59 клинико-лабораторных препаратов, видов исследований, видов инструментальных обследований и других медицинских мероприятий -0.

7.2 Экономический расчет прямых медицинских затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в условиях стационарного лечения в городе Москве

Полученные при выполнении первого этапа результаты позволили провести экономический расчет прямых медицинских затрат на диагностику и лечение ВУИ вирусной этиологии у новорожденных в условиях стационарного лечения в городе Москве Центрального федерального округа за выбранный период времени (второй этап).

Расчет прямых медицинских затрат на стационарное лечение одного новорожденного с ВУИ вирусной этиологии с учетом степени тяжести заболевания представлены в таблицах 7.1–7.4.

Данные экспертов по суточным дозам лекарственных препаратов и продолжительности курса терапии рассчитывались как средние значения и округлялись до целых значений (исключение: суточная дозировка препарата дексаметазон). В случае назначения одному пациенту части ампульной или флаконной формы лекарственного препарата в расчете использовалась полная стоимость одной ампулы или флакона и делалось допущение, что оставшаяся часть вскрытой ампулы (флакона) утилизируется. В дальнейших расчетах полученные данные по стоимости суточных доз лекарственных препаратов для одного новорожденного до целых значений не округлялись. Данные экспертов по кратности проведения лабораторных, инструментальных исследований и других медицинских мероприятий рассчитывались как средние значения и округлялись до целых значений.

Из таблицы 7.1 следует, что расчетная стоимость лекарственного обеспечения при стационарном лечении одного новорожденного с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве Центрального федерального округа по данным за 2020 г. в зависимости от степени тяжести заболевания варьировала от 11 531,90 до 135 203,85 руб./пациента, что в среднем составило 77 458,10 руб./пациента.

Таблица 7.1 – Затраты на лекарственное обеспечение при стационарном лечении новорожденных с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве по данным за 2020 г.

апии в 1 тяжести	ý.		тяжелая		27 930		1568,00			1200			99 200			10 000		32,50	
Стоимость курса терапии в зависимости от степени тяжести	заболевания, руб.		-әнтәdэ	тяжелая	18 620		784,00			1200			39 900			0009		32,50	
Стоимс	3a(легкая		0		999			1 200			0			0009		32,50	
ность дости от	сти	дни	тяжелая		21		28			10			5			5		5	
Продолжительность терапии в зависимости от	степени тяжести	заболевания, дни	-энгредне-	тяжелая	14		14			10			3			3		5	
Прод терапи	CTC	3a6	легкая		0		10			10			0			3		5	
Стои-	при весе	2,5 KT,	py6.		1330		26,00			120			13 300			2000		6,50	
Цена, руб. с	НДС	/ед.,	py6.		2,66		002			8,0			5,32			20		3,25	
Ед./ГЛФ					500		1 500 000			250			500			100		20	
Цена за	ГЛФ,	py6.			1330		280			200			7660			2000		99	
Исполь- зуемая	суточ-	ная	доза/кг		12		300 000			09			1000			10		0,1	
Еди- ница	ИЗ-	мере-	КИН		ML		ME			MI			ML			МЛ		МЛ	
Ле- карст-	венная	форма			р-р, амп	гф /	свечи	ректаль	Н	р-р, амп	тф /		р-р, амп	гф /		р-р, амп	гф /	р-р, амп	гф /
MHH					Ганцикловир		Интерферон альфа			Ацикловир, для	внутривенного	введения	Иммуноглобулин	человека	нормальный	Альбумин		Дротаверин	

Продолжение таблицы 7.1

П <u> </u>
ища зуемая за из- суточ- ГЛФ,
мере- ная руб.
ния доза/кг
MF 20 1150 12 500
Mr 100 425
Mr 100 25
MF 100 50
MF 20 305
MF 15 300
MF 60 480
мг 10 140

Продолжение таблицы 7.1

Карст - ница ница уусмая за дам дам дам дам дам дам дам дам дам да	MHH	Ле-	Еди-	Исполь-	Цена	Ед./ГЛФ	Цена,	Стои-	Про,	Продолжительность	НОСТЬ	Стоим	Стоимость курса терапии в	запии в
венная из- суточ- ГЛФ, НДС при все при все при все провения дни в пробрия в пробром в п		карст-	ница	зуемая	33		руб. с	MOCTB	терапи	и в зависим	мости от	зависимо	зависимости от степени тяжести	и тяжести
форма мере- ная руб. /сл. 2.5 кг, заболевания лин Р-р лия мг 10 21 500 0,04 1,05 0 5 7 -рии лоз в доза/кг 50 1,50 7,50 7,50 7 14 21 -ри ми/ фл ми/ фл мг 2 60 200 0,30 6,00 0 7 14 21 8 р-р. амп мг 2 60 200 0,01 330 0 5 7 14 8 р-р. амп мг 2 60 200 0,01 330 0 5 7 14 9 р-р. амп мг 0,3 100 10 10 0 3 5 7 14, фи 7 10 10 0 3 5 7 14 14 16, 4 7 10 0 <t< td=""><td></td><td>венная</td><td>ИЗ-</td><td>суточ-</td><td>ГЛФ,</td><td></td><td>НДС</td><td>при весе</td><td>CT</td><td>епени тяже</td><td>сти</td><td>38</td><td>заболевания, руб.</td><td>·6.</td></t<>		венная	ИЗ-	суточ-	ГЛФ,		НДС	при весе	CT	епени тяже	сти	38	заболевания, руб.	·6.
РР для MI 100 a/kr 21 500 0,04 1,05 0 5 7 РР для MI 10 21 500 0,04 1,05 0 5 7 Рин фузий дол в для Дол в для 2 75 50 1,50 7,50 7 14 21 Р-р, ами MI 2 60 200 0,30 6,00 0 7 14 21 Я Р-р, ами ME 200 1650 125 000 0,01 330 0 5 7 14 Р-р, ами MI 0,3 100 10 10 0 3 5 7 Р-р, ами MI 20 30 100 0,30 30 0 7 14 14		форма	мере-	ная	py6.		/ед.,	2,5 KT,	3a(олевания,	дни			
PPP μυβ Mr 10 21 500 0,04 1,05 0 5 7 Punфузий Mr 103 21 500 0,04 1,05 0 5 7 Pund доз в мит фл доз мит фл Mr 2 60 200 0,30 6,00 0 7 14 21 8 P-P, ами Mr 20 1650 125 000 0,01 330 0 5 7 9 Фрл ами Mл 0,3 100 10 10 10 3 5 4 фл 7 фл 3 100 0,30 30 0 7 14 1, фл 7 фл 1 1 1 1 1 1 1			КИН	доза/кг			py6.	py6.	легкая	средне-	тяжелая	легкая	средне-	тяжелая
РР. дия инфузий MT 10 21 500 0,04 1,05 0 5 7 РРии доз в дил фл доз в дил фл доз в дил фл дол фл 1,50 7,50 7 14 21 РР. амп фл MГ 2 60 200 0,30 6,00 0 7 14 Я РР. амп ME 200 1650 125 000 0,01 330 0 5 7 РР. амп Mл 0,3 100 10 10 0 3 5 Фрл Mл 20 30 100 0,30 30 0 7 14 д, Фрл М 20 30 100 0,30 30 0 7 14				_						тяжелая			тяжелая	
-рии дозв 5 75 50 1,50 7,50 7 14 21 -рии дол фл мг 2 60 200 0,30 6,00 0 7 14 21 я р-р. амп мг 2 60 200 0,01 330 0 7 14 я р-р. амп мл 0,3 100 10 10 0 3 5 п, фл / фл мл 20 30 100 0,30 30 0 7 14 г, / фл мл 20 30 100 0,30 30 0 7 14	Метронидазол	вид d-q	MI	10	21	500	0,04	1,05	0	5	7	0	5,25	7,35
-Phu λ03 в awn / фл доза b awn / фл доза b awn / фл 5 75 50 1,50 7,50 7 14 21 P-P, awn MF 200 1650 200 0,30 6,00 0 7 14 S P-P, awn ME 200 1650 125 000 0,01 330 0 5 7 P-P, awn Mл 0,3 100 10 10 0 3 5 I, фл / фл / фл 7 14 14		инфузий												
вми / фл мг 2 60 200 0,30 6,00 0 7 в / фл мг 20 1650 125 000 0,01 330 0 5 в / фл мл 0,3 100 10 10 0 3 п, фл / фл мл 20 30 100 0,30 30 0 7	Бифидумбакте-рии	ДОЗ В	Доза	5	75	50	1,50	7,50	7	14	21	52,50	105,00	157,50
мг 2 60 200 0,30 6,00 0 7 $/ \phi_{\rm JI}$ мг 2 60 200 0,30 6,00 0 7 $/ \phi_{\rm JI}$ мл 0,3 100 10 10 10 0 3 $/ \phi_{\rm JI}$ мл 20 30 100 0,30 30 0 7 $/ \phi_{\rm JI}$, $/ \phi_{\rm JI}$ мл 20 30 100 0,30 30 0 7 $/ \phi_{\rm JI}$, $/ \phi_{\rm JI}$ мл 20 30 100 0,30 30 0 7 $/ \phi_{\rm JI}$, $/ \phi_{\rm JI}$	бифидум	амп / фл												
я /фл ME 200 1650 125 000 0,01 330 0 5 /фл P-P, aмп Mл 0,3 100 10 10 0 3 д, /фл Mл 20 30 100 0,30 30 7 д, /фл Mл 20 30 100 0,30 30 7	Фуросемид	р-р, амп	ML	2	09	200	0,30	6,00	0	7	14	0	42,00	84,00
м р-р, амії МЕ 200 1650 125 000 0,01 330 0 5 5 7 7 100 100 0,30 30 0 7 1 100 100 0,30 30 0 7 1 100 100 0,30 30 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1		/ фл												
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	епарин натрия	р-р, амп	ME	200	1650	125 000	0,01	330	0	5	7	0	1650	2310
p-p, амп Mл 0,3 100 10 10 0 3 d, фл / фл 100 0,30 30 0 7		тф /												
7 фл р-р, амп мл 20 30 100 0,30 30 0 7 д., фл фл 4 фл 50 30 100 0,30 30 0 7 д., фл 50 30 30 0 7 д.	[ексаметазон	р-р, амп	MJI	0,3	100	10	10	10	0	3	5	0	30	50
д, / фл		/ фл												
д,	Калия хлорид,	р-р, амп	МЛ	20	30	100	0,30	30	0	7	14	0	210	420
магния хлорид, натрия ацетат, натрия хлорид	кальция хлорид,	тф /												
натрия ацетат, натрия хлорид	магния хлорид,			_										
натрия хлорид	натрия ацетат,			_										
	натрия хлорид													

Продолжение таблицы 7.1

33			-	11podonari cabitoci b	1001	CIORINI	стоимость курса терании в	оапии в
	py6. c	MOCTB	терапии	терапии в зависимости от	гости от	зависимо	зависимости от степени тяжести	и тяжести
ГЛФ,	ндс	при весе	СТС	степени тяжести	сти	38	заболевания, руб.	·6.
py6.	/ед.,	2,5 kg,	3a60	заболевания, дни	дни			
	py6.	py6.	легкая	средне-	тяжелая	легкая	средне-	тяжелая
				тяжелая			тяжелая	
25 100	0,25	25,00	0	7	14	0	175,00	350
576 12 500	0,05	57,60	0	7	7	0	403,20	403,20
на одного пацие:	нта, руб.	-		-		11 531,90	85 638,55	135 203,85
Примечание-Р-р-раствор; амп. – ампула; фл. – флакон	НС				_			
25 577 411.	5 12 500 а одного пациерула; фл. — флако	Калия хлорид, p-p, амп мл 20 25 100 0,25 натрия ацетат, / фл мг 10 576 12 500 0,05 Этамзилат р-p, амп мг 10 576 12 500 0,05 Затраты на лекарственное обеспечение в расчете на одного пациента, руб. Примечание е чание – P-р раствор; амп. – ампула; фл. – флакон		руб. легка 25,00 0 57,60 0	руб. легка 25,00 0 0 57,60 0	руб. легкая средне- Тяжелая 25,00 0 7	руб. легкая средне- тяжелая 25,00 0 7 14	руб. легкая средне- тяжелая легкая 25,00 0 7 14 0 6 7 7 14 31,90

Основные финансовые затраты приходились на препараты, относящиеся к лекарственным группам нуклеозиды и нуклеотиды (J05AB) и иммуноглобулины, нормальные человеческие (J06BA). Так, стоимость курса терапии ганцикловиром составила при среднетяжелой форме заболевания 18 620 руб./пациента и 135 203,85 руб./пациента при тяжелой.

Ганцикловир представляет собой синтетический аналог 2'-дезоксигуанозина, подавляющий размножение вирусов герпеса человека как *in vitro*, так и *in vivo*. Его вирусостатическое действие обусловлено подавлением синтеза вирусной ДНК путем: конкурентного ингибирования встраивания дезоксигуанозинтрифосфата в ДНК под действием ДНК-полимеразы; включения ганцикловиртрифосфата в вирусную ДНК, приводящего к прекращению удлинения вирусной ДНК или очень ограниченному ее удлинению. Данный препарат активен в отношении ЦМВ, а также ВПГ-1, ВПГ-2, ВГЧ-3, ВЭБ, ВГЧ-6а, ВГЧ-6b, ВГЧ-7, ВГЧ-8 и вируса гепатита В. Однако клинические исследования ограничивались преимущественно оценкой эффективности препарата у пациентов, инфицированных ЦМВ.

Необходимо подчеркнуть, что в подавляющем большинстве случаев курс противовирусной терапии длится до подтверждения недетектируемого уровня вирусной ДНК в исследуемых образцах цельной венозной крови, определяемого с помощью ПЦР-исследования. Таким образом, пациенты с наследуемым хиВГЧ-ба/b-статусом могут получать продолжительную противовирусную терапию. Клинико-лабораторное наблюдение проведения необоснованно длительной терапии ганцикловиром у недоношенного новорожденного с врожденной ЦМВИ и наследуемым хиВГЧ-ба/b-статусом после клинического улучшения, связанного с уменьшением активности ЦМВИ, представлено в главе 6.

Как следует из таблицы 7.2, расчетная стоимость затрат на лабораторные исследования, проводимых при стационарном лечении одного новорожденного с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве Центрального федерального округа по данным за 2020 г. в зависимости от степени тяжести заболевания варьировала от 17 823,77 до 52 785,19 руб./пациента, что в среднем составило 35 061,43 руб./пациента.

Таблица 7.2 – Затраты на лабораторные исследования при стационарном лечении новорожденных с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве по данным за 2020 г.

Вид исследования / Ан	налит / Вид	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
биологического ма	гериала	тяжести	исследова-	проведе-	курс
		заболевания	ния, руб.	ния	лечения
					(итого),
					руб.
_		легкая	196,49	3	589,47
Клинический анализ кр	оови	среднетяжелая	196,49	5	982,45
		тяжелая	196,49	9	1768,41
		легкая	76,32	2	152,64
Общий анализ мочи		среднетяжелая	76,32	4	305,28
		тяжелая	76,32	7	534,24
		легкая	757,96	2	1515,92
Биохимический анализ	в крови	среднетяжелая	757,96	4	3031,84
		тяжелая	757,96	7	5305,72
I		легкая	424,03	1	424,03
Коагулограмма (исслед		среднетяжелая	424,03	3	1272,09
автоматическом коагулометре)		тяжелая	424,03	4	1696,12
Исследование спинномозговой жидкости		легкая	261,13	0	0
		среднетяжелая	261,13	2	522,26
		тяжелая	261,13	4	1044,52
	пеш под	легкая	557,23	2	1114,46
	цельная	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
	кровь	тяжелая	557,23	5	2786,15
		легкая	557,23	2	1114,46
ДНК ВГЧ-6a/b	клетки	среднетяжелая	557,23	4	2228,92
методом ПЦР*	крови	тяжелая	557,23	4	2228,92
	мазок из	легкая	557,23	2	1114,46
	рото-	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
	глотки	тяжелая	557,23	5	2786,15

Продолжение таблицы 7.2

Вид исследования / Ан	налит / Вид	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
биологического ма	териала	тяжести	исследован	проведе-	курс
		заболевания	ия, руб.	ния	лечения
					(итого),
					руб.
		легкая	557,23	2	1114,46
	слюна	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
		тяжелая	557,23	5	2786,15
ДНК ВГЧ-6а/b		легкая	557,23	2	1114,46
методом ПЦР*	моча	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
методом тіці		тяжелая	557,23	5	2786,15
	спинно-	легкая	557,23	0	0
	мозговая	среднетяжелая	557,23	2	1114,46
	жидкость	тяжелая	557,23	3	1671,69
	нош ноя	легкая	557,23	2	1114,46
	цельная	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
ДНК ЦМВ методом	кровь	тяжелая	557,23	4	2228,92
ПЦР*	мазок из	легкая	557,23	2	1114,46
	рото-	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
	глотки	тяжелая	557,23	4	2228,92
		легкая	557,23	2	1114,46
THE IN (D	слюна	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
		тяжелая	557,23	4	2228,92
		легкая	557,23	2	1114,46
ДНК ЦМВ методом ПЦР*	моча	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
1114		тяжелая	557,23	5	2786,15
	спинно-	легкая	557,23	0	0
	мозговая	среднетяжелая	557,23	2	1114,46
	жидкость	тяжелая	557,23	3	1671,69
ПНК БЭЕ модолом	поштиод	легкая	557,23	2	1114,46
ДНК ВЭБ методом ПЦР*	цельная	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
11141	кровь	тяжелая	557,23	5	2786,15

Продолжение таблицы 7.2

Вид исследования / А	налит / Вид	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
биологического ма	териала	тяжести	исследован	проведе-	курс
		заболевания	ия, руб.	ния	лечения
					(итого),
					руб.
		легкая	557,23	2	1114,46
	слюна	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
		тяжелая	557,23	5	2786,15
ДНК ВЭБ методом		легкая	557,23	2	1114,46
ПЦР*	моча	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
ПЦ		тяжелая	557,23	5	2786,15
	спинно-	легкая	557,23	0	0
	мозговая	среднетяжелая	557,23	2	1114,46
	жидкость	тяжелая	557,23	3	1671,69
	нош нод	легкая	557,23	2	1114,46
	цельная	среднетяжелая	557,23	3	1671,69
ДНК ВПГ-1/2	кровь	тяжелая	557,23	4	2228,92
методом ПЦР*		легкая	557,23	0	0
	моча	среднетяжелая	557,23	2	1114,46
		тяжелая	557,23	2	1114,46
пик рпг 1/2	спинно-	легкая	557,23	0	0
ДНК ВПГ-1/2 методом ПЦР*	мозговая	среднетяжелая	557,23	1	557,23
методом пцр жидкост		тяжелая	557,23	2	1114,46
IgG к антигенам ВГЧ-6а/b		легкая	150,31	1	150,31
методом ИФА в сыво	ротке	среднетяжелая	150,31	1	150,31
крови**		тяжелая	150,31	1	150,31
IgM к антигенам ЦМІ	В методом	легкая	150,31	0	0
ИФА (или ХЛИА) в с	ыворотке	среднетяжелая	150,31	0	0
крови**		тяжелая	150,31	2	300,62
IgG к антигенам ЦМЕ	3 методом	легкая	150,31	1	150,31
ИФА (или ХЛИА) в с	ыворотке	среднетяжелая	150,31	2	300,62
крови**		тяжелая	150,31	2	300,62

Продолжение таблицы 7.2

Вид исследования / Аналит / Вид	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
биологического материала	тяжести	исследован	проведе-	курс
	заболевания	ия, руб.	ния	лечения
				(итого),
				руб.
IgG к антигенам ЦМВ методом	легкая	202,80	1	202,80
ИФА (или ХЛИА) в	среднетяжелая	202,80	2	405,60
количественном формате с				
определением индекса авидности	тяжелая	202,80	2	405,60
в сыворотке крови***				
IgM к антигенам ВПГ-1/2	легкая	150,31	0	0
методом ИФА (или ХЛИА) в	среднетяжелая	150,31	0	0
сыворотке крови**	тяжелая	150,31	2	300,62
IgG к антигенам ВПГ-1/2	легкая	150,31	1	150,31
методом ИФА (или ХЛИА) в количественном формате в	среднетяжелая	150,31	2	300,62
сыворотке крови**	тяжелая	150,31	2	300,62
Затраты на лабораторные	легкая			17 823,77
исследования в расчете на одного	среднетяжелая			34 575,34
пациента, руб.	тяжелая			52 785,19

 Π р и м е ч а н и е — *Определение ДНК и/или РНК одного микроорганизма в любом биологическом материале методом Π ЦР/ОТ- Π ЦР, **определение одного иммуноглобулина к одному инфекционному агенту, *** определение авидности к одному инфекционному агенту

Лидирующие позиции по стоимости одного вида исследования занимали: биохимический анализ крови (757,96 руб./пациента) и определение ДНК и/или РНК одного микроорганизма в одном биологическом материале методом ПЦР (557,23 руб./пациента). При этом в структуре финансовых затрат на курс стационарного лечения одного пациента с ВУИ тяжелой степени тяжести на биохимический анализ крови приходось 5305,72 руб.

Установлено, что финансовые затраты на инструментальное исследование и другие медицинские мероприятия при стационарном лечении новорожденных с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве Центрального федерального округа по данным за 2020 г. напрямую зависели от степени тяжести течения заболевания и варьировали от 2767,46 до 10 578,00 руб./пациента, что в среднем на одного новорожденного составило 7078,50 руб. (таблица 7.3).

Таблица 7.3 – Затраты на инструментальное исследование и другие медицинские мероприятия при стационарном лечении новорожденных с ВУИ вирусной этиологии в городе Москве по данным за 2020 г.

Наименование	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
медицинской услуги	тяжести	исследова-	проведения	курс
	заболевания	ния, руб.	исследова-	стационарно-
			ния	го лечения,
				руб.
Транскраниальная УЗ-	легкая	327,28	2	654,56
допплерография (в т.ч.	среднетяжелая	327,28	4	1309,12
нейросонография)	тяжелая	327,28	4	1309,12
УЗИ органов	легкая	176,76	2	353,52
гепатобилиарной системы	среднетяжелая	176,76	4	707,04
Tenaroommaphon encremble	тяжелая	176,76	4	707,04
УЗИ почек,	легкая	176,76	2	353,52
надпочечников и	среднетяжелая	176,76	4	707,04
забрюшинного	ер едитетиялия			707,01
пространства	тяжелая	176,76	4	707,04
	легкая	88,05	2	176,10
УЗИ мочевого пузыря	среднетяжелая	88,05	4	352,20
	тяжелая	88,05	4	352,20
	легкая	124,73	1	124,73
УЗИ вилочковой железы	среднетяжелая	124,73	1	124,73
	тяжелая	124,73	1	124,73

Продолжение таблицы 7.3

Наименование	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
медицинской услуги	тяжести	исследова-	проведения	курс
	заболевания	ния, руб.	исследова-	стационарно-
			ния	го лечения,
				руб.
Эхокардиография с	легкая	328,16	1	328,16
допплеровским анализом	среднетяжелая	328,16	2	656,32
донилеровским анализом	тяжелая	328,16	2	656,32
ЭКГ переносным	легкая	108,35	1	108,35
аппаратом в палатах				
стационара и других	среднетяжелая	108,35	2	216,70
помещениях ЛПУ по				
вызову (вне кабинета	тяжелая	108,35	3	325,05
ЭКГ), в том числе по cito		211.20	1	211.20
Rg-графия органов	легкая	211,39	1	211,39
грудной клетки	среднетяжелая	211,39	4	845,56
Rg-графия органов	тяжелая	211,39	5	1056,95
грудной клетки				ŕ
Магнитно-резонансная	легкая	1444,65	0	0
томография одной				
анатомической области у	среднетяжелая	1444,65	1	1444,65
детей (без	тяжелая	1444,65	2	2889,30
контрастирования)		,		ŕ
	легкая	146,00	1	146,00
Осмотр офтальмолога	среднетяжелая	146,00	3	438,00
	тяжелая	146,00	4	584,00
	легкая	179,61	1	179,61
Осмотр невролога	среднетяжелая	179,61	3	538,83
	тяжелая	179,61	5	898,05
Консультация	легкая	131,52	1	131,52
инфекциониста	среднетяжелая	131,52	2	263,04
тіфекциописта	тяжелая	131,52	3	394,56

Продолжение таблицы 7.3

Наименование	Степень	Стоимость	Кратность	Затраты на
медицинской услуги	тяжести	исследова-	проведения	курс
	заболевания	ния, руб.	исследова-	стационарно-
			ния	го лечения,
				руб.
Диагностическая	легкая	286,82	0	0
, ,	среднетяжелая	286,82	1	286,82
спинальная пункция	тяжелая	286,82	2	573,64
Затраты на	легкая		1	2767,46
инструментальное	JICI KUZI			2707,40
исследование и др.	срепцетаженая			7890,05
медицинские мероприятия	среднетяжелая			7890,03
в расчете на одного	тажыла			10 578,00
пациента, руб.	тяжелая			10 3/0,00

Лидирующие позиции по стоимости одного вида исследования занимали: магнитно-резонансная томография одной анатомической области у детей (без контрастирования) (1444,65 руб./пациента) и транскраниальная УЗ-допплерография (в т.ч. нейросонография) (654,56 руб./пациента). Максимальное значение в структуре финансовых затрат на курс стационарного лечения одного пациента с ВУИ тяжелой степени тяжести приходилось на магнитно-резонансную томографию одной анатомической области у детей (без контрастирования) — 2889,30 руб./пациента.

Сводные данные расчета прямых медицинских затрат по составляющим «Лекарственное обеспечение, лабораторные и инструментальные исследования» представлены в таблице 7.4.

Таким образом, прямые медицинские затраты, обусловленные случаем ВУИ вирусной этиологии новорожденного в городе Москве, по расчетным данным за 2020 г., составили в зависимости от степени тяжести заболевания от 32 123,13 до 198 567,04 руб./пациента (среднее – 119 598,04 руб./пациента).

Таблица 7.4 — Прямые медицинские затраты на диагностику и лечение ВУИ вирусной этиологии у новорожденных в условиях стационарного лечения в городе Москве по данным за 2020 г.

Наименование медицинской	Затраты в за	висимости от степе	ени тяжести
услуги		заболевания, руб.	
	легкая	среднетяжелая	тяжелая
Лекарственное обеспечение	11 531,90	85 638,55	135 203,85
Лабораторные исследования	17 823,77	34 575,34	52 785,19
Инструментальное исследование и др. медицинские мероприятия	2767,46	7890,05	10 578,00
Итого, на одного пациента	32 123,13	128 103,94	198 567,04

7.3 Оценка экономической целесообразности внедрения способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного вируса герпеса 6а/b у новорожденных в практическое здравоохранение, эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе

На третьем этапе исследования выполнен расчет величины возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса у новорожденных с ВУИ при стационарном лечении в городе Москве Центрального федерального округа по данным за 2020 г. и обоснование экономической целесообразности внедрения данного подхода в рамках оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ТоRCH-группы в регионе.

Согласно расчетным данным из 5297 случаев ВУИ, зарегистрированных в родильных домах, акушерских стационарах (отделениях) в мегаполисе за указанный период времени предположительно на пациентов с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом при частоте встречаемости равной 1% от общего количества обследованных приходились 53 случая. По предварительным расчетам затраты на

выявление и лабораторное подтверждение хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, составят на одного пациента: при определении ДНК одного микроорганизма методом ПЦР-РВ в двух видах биологического материала (образцы цельной крови, ногтевых пластин или волосяных фолликулов) 1114,46 руб., трех видах биологического материала (образцы цельной крови, ногтевых пластин, волосяных фолликулов) – 1671,69 руб.

Расчет величины возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса у новорожденных при стационарном лечении в мегаполисе с учетом их распределения по степеням тяжести течения заболевания представлен в таблице 7.5.

Как таблицы 7.5. расчетная следует величина возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, у новорожденных с ВУИ при стационарном лечении в городе Москве установлена в размере $5\,997\,435,84-6\,026\,969,03$ руб. по состоянию на $2020\,\mathrm{r}$. Данный показатель включает затраты на лекарственное обеспечение, клиниколабораторное, инструментальное обследования И медицинские другие мероприятия. В тоже время, затраты на выявление и лабораторное подтверждение наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациентов в рассматриваемом регионе могли составить от 59 066,38 до 88 599,57 руб. в этот же период времени. А именно, при определении ДНК ВГЧ-6а/в методом ПЦР-РВ в двух видах биологического материала — $59\,066,38\,$ руб., трех видах биологического материала — $88\,599,57\,$ руб.

Таки образом, гипердиагностика врожденных инфекций, вызываемых ВГЧ-6а и/или ВГЧ-6b у новорожденных с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса, несет дополнительное необоснованное экономическое бремя для системы здравоохранения и общества.

Таблица 7.5 – Расчет величины возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, у новорожденных с ВУИ при стационарном лечении в городе Москве по данным за 2020 г.

Наименование показатени		Степень тяжести заболевания		Всего
паписпование показатели	легкая	среднетяжелая	тяжелая	
Зарегистрировано заболеваний, случаев	1059	3708	530	5297
Расчетное количество новорожденных с наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом, случаев	11	37	\$	53
Прямые медицинские затраты, руб.	353 354,43	4 739 845,78	992 835,20	6 086 035,41
Затраты на выявление и лабораторное подтверждение наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса, руб.	12 259,06 – 18 388,59	41 235,02 – 61 852,53	5572,30 – 8358,45	59 066,38 – 88 599,57
Предотвращенный экономический ущерб, руб.	341 095,37 – 334 965,84	4 698 610,76 – 4 677 993,25	987 262,90 – 984 476,75	987 262,90 – 984 476,75 6 026 969,03 – 5 997 435,84

Проведенные расчеты величины возможного предотвращенного экономического ущерба при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b у новорожденных с ВУИ в условиях стационарного лечения в городе Москве Центрального федерального округа согласно данным за 2020 г. свидетельствуют о том, что реализация данного подхода позволяет сократить затраты здравоохранения мегаполиса (предотвращенный экономический ущерб) на сумму порядка 6 млн. руб. На основании полученных нами данных целесообразно рекомендовать использование предложенного инновационного способа для расширенного лабораторного обследования новорожденных с выявленными маркерами активной ВГЧ-6а/bинфекции. Отдельного обсуждения также заслуживает вопрос о целесообразности включения инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/ь, передаваемого по наследству, у новорожденных с ВУИ в перечень лабораторных исследований, входящих в тарифы территориальных фондов ОМС. Определение концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в различных средах пациента (цельная кровь, ногтевые пластины и / или волосяные фолликулы) является на сегодняшний момент единственным доступным для практического здравоохранения способом, позволяющим определить активность герпесвирусной инфекции, вызываемой ВГЧ-6а/b, и подобрать адекватную терапию без полипрагмазии в случае определения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса. Внедрение способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, у новорожденных с ВУИ позволит повысить эффективность сбора, учета и эпидемиологического анализа данных при оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы в Российской Федерации.

Практической реализацией результатов проведенного исследования являются: разработка программы для ЭВМ «Анализ и экономический расчет затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций у новорожденных» [236], создание баз данных «Анализ и экономический расчет прямых затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в Московском регионе» [277] и «Анализ экономической

значимости лабораторного подтверждения наследуемого хромосомноинтегрируемого вируса герпеса человека 6A/B у новорожденных в Московском регионе» [237].

На программу для ЭВМ «Анализ и экономический расчет затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций у новорожденных» в установленном порядке в Российской Федерации 26 октября 2021 года подана заявка № 2021666825 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021667325. Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ — 27 октября 2021 года [236].

На базу данных «Анализ и экономический расчет прямых затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в Московском регионе» в установленном порядке в Российской Федерации 16 ноября 2021 года подана заявка № 2021622510 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622600. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных — 23 ноября 2021 года [277].

На базу данных «Анализ экономической значимости лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6А/В у новорожденных в Московском регионе» в установленном порядке в Российской Федерации 3 декабря 2021 года подана заявка № 2021622804 на государственную регистрацию. По заявке получено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622858. Дата государственной регистрации в Реестре баз данных — 9 декабря 2021 года [Ошибка! Закладка не определена.].

ГЛАВА 8. НАУЧНО ОБОСНОВАННЫЕ ПОДХОДЫ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ИНФЕКЦИЯМИ ТОРСН-ГРУППЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Понятие эпидемиологического надзора является одним из базовых в теории и практике эпидемиологической науки. В понятие «эпидемиологический надзор» входит представление о системном слежении (наблюдении) за эпидемическими процессами инфекционных болезней. Эпидемиологический надзор необходим, прежде всего, для определения приоритетов в определение целей профилактики заболеваний, прогнозирования заболеваемости, планирования и распределение использования организационных ресурсов. Без использования возможностей эпидемиологической диагностики в рамках эпидемиологического надзора невозможно выявление эпидемий на ранних стадиях, проведения эффективного мониторинга, корректной оценки программ по профилактике заболеваний. Эпидемиологический надзор в отечественном здравоохранении определяется как непрерывная оценка состояния и тенденций развития эпидемического процесса для определения причин его развития и своевременного принятия решения, обеспечивающего проведение ситуации мероприятий. адекватных Эпидемиологический надзор проводится в противоэпидемических учреждениях всех уровней, причем предусмотрен обязательный обмен информацией между учреждениями смежных уровней.

Изучение и глубокое понимание особенностей распространения эпидемического процесса заболеваний с учетом их потенциальной опасности, позволяет эффективно предупреждать негативные последствия их распространения на определенных территориях и/или коллективах. В российской системе здравоохранения организованы несколько потоков сбора данных для проведения эпидемиологического надзора. Так, на местном уровне данные

предоставляют лечащие врачи, которые обязаны сообщать о выявленных ими случаях инфекционного заболевания, подлежащих регистрации (пассивная система надзора). Дополнительные данные в систему эпидемиологического надзора поступают из отчетов лабораторий, скриннинговых обследований, регистров заболеваний, свидетельств о смерти и т.п., также дополняются материалами, полученными в ходе расследования вспышек заболеваний.

В первом определении понятия «эпидемиологический надзор», данном Всемирной организацией здравоохранения (1969) сказано, что «Эпидемиологический надзор – это система, обеспечивающая непрерывный сбор данных об инфекционной заболеваемости, анализ и обобщение поступающих материалов, и распространение обобщенной информации» [242].

В современной эпидемиологической науке эпидемиологический надзор определяется как непрерывная оценка состояния и тенденций развития эпидемического процесса для определения причин его развития и своевременного принятия решения, обеспечивающая проведение адекватных ситуации мероприятий. Эпидемиологический надзор, как система, базируется на глубоком понимании эпидемиологических закономерностей течения эпидемического процесса.

Различают теоретическую, методическую и организационную основы эпидемиологического надзора. Теоретической основой эпидемиологического надзора являются теории эпидемиологии:

- учение об эпидемическом процессе и определяющей роли механизма передачи возбудителя, разработанное выдающимся советским эпидемиологом Л. В. Громашевским (1941 г.);
- учение о природной очаговости инфекционных болезней, созданное Е. Н. Павловским и его школой (1939 г.);
- социально-экологическая концепция эпидемического процесса,
 сформулированная Б. Л. Черкасским (1984 г.);
- концепция о механизме саморегуляции паразитарных систем, высказанная В. Д. Беляковым и успешно разрабатываемая его школой (1985 г.).

Ha были сформулированы основании приведенных выше теорий теоретические принципы проведения эпидемиологического надзора. Указанные организации теории имеют прикладное значение В И проведении эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями.

Современный подход к изучению эпидемического процесса, базирующийся на теории саморегуляции эпидемического процесса В. Д. Белякова, отличается цельностью восприятия его как системы, аккумулирующей в себе биологическую и социальную сущность и, следовательно, способной применительно к биологической его части как любой живой системе сохранять, восстанавливать исходное состояние или самостоятельно избирать новое состояние [278]. Именно теория саморегуляции эпидемического процесса, разработанная В. Д. Беляковым, легла в фундаментальную основу разработанного в современный период практики проведения эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями.

Эпидемиологический надзор — это комплексный механизм непрерывного и всестороннего мониторинга за эпидемическим процессом конкретного заболевания на определенной территории. Целью надзора является улучшение и повышение эффективности профилактических и противоэпидемических мер (рисунок 8.1).

В настоящее время эпидемиологический надзор приобрел статус официально принятой в стране информационно-аналитической системы, системы наблюдения за эпидемическим процессом и его детерминантами, четко реагирующей на все возможные изменения в развитии эпидемического процесса. Система надзора базируется на понимании закономерностей эпидемического процесса конкретной инфекции, биологических свойств возбудителя, особенностей клинического течения, природных факторов, способствующих роли социальных И распространению инфекционной болезни, на оценке иммунной прослойки населения. Система эпидемиологического надзора по своей сути является информационно-аналитической, не оказывает непосредственного влияния на эпидемический процесс, поэтому оценивать ее эффективность по влиянию на уровни и структуру заболеваемости нельзя.

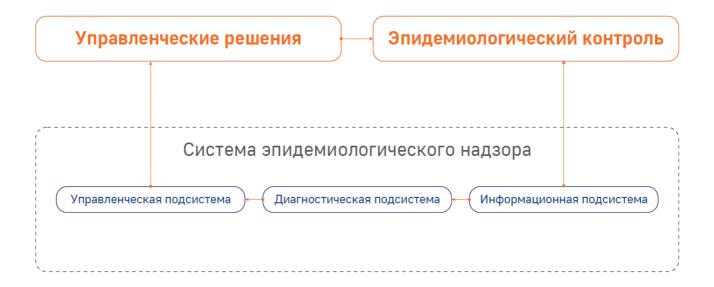


Рисунок 8.1 – Схема системы эпидемиологического надзора и управления эпидемическим процессом

Данная система служит отправной точкой для принятия соответствующих обстановке управленческих решений, корректировки мероприятий, от которых на прямую зависит эффективность управления эпидемическим процессом. Эффективность эпидемиологического надзора можно оценить лишь по его способности обеспечить информацией, для принятия адекватных ситуации управленческих решений. Влияние системы эпидемиологического надзора на эпидемический процесс опосредованно и зависит от своевременности и качества сбора, анализа, передачи информации, планирования, контроля и коррекции мероприятий (профилактических и противоэпидемических).

Методической основой эпидемиологического надзора является эпидемиологическая диагностика. К основным методам эпидемиологической диагностики относится ретроспективный и оперативный эпидемиологический анализы, эпидемиологическое обследование очагов.

С организационной точки зрения эпидемиологический надзор представляет собой определенную деятельность санитарно-эпидемиологический службы, направленную на сбор, анализ и оценку данных эпидемиологического надзора. По результатам эпидемиологического надзора осуществляется принятие

управленческих решений, в виде планирования мероприятий, постановки задач проверки исполнения мероприятий, корректировки планов исполнителям. мероприятий. Организационная основа эпидемиологического надзора – это участие в его осуществлении как медицинских, так и немедицинских сил различного уровня (учреждения Роспотребнадзора, медицинские организации, профильные научные учреждения, административные органы территорий, организаций). Проведение государственного предприятий санитарноэпидемиологического надзора регламентировано в Федеральном законе № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 года, статья 44 [279].

Конечная цель эпидемиологического надзора заключается в выработке научно обоснованного комплекса управляющих стратегических решений и последующей оценки эффективности всей системы. При динамической оценке эпидемической ситуации необходимо учитывать, как биологические (состояние популяции возбудителя, хозяев, их взаимодействия друг с другом и средой обитания посредством специфического механизма передачи), так и природносошиальные компоненты (условия труда, быта И отдыха населения) Эффективность процесса. эпидемиологического эпидемического выражается в качестве рационально сформированной системы профилактики и борьбы с инфекцией, т.е. степенью влияния на проявления эпидемического процесса. Эффективность эпидемиологического надзора отражается способности обеспечения информацией, необходимой и достаточной для принятия рациональных управленческих решений и их оптимальной реализации.

Эпидемиологический осуществляется надзор посредством трех взаимодействующих подсистем: информационной, диагностической управленческой (рисунок 8.1). В рамках информационной подсистемы осуществляется сбор и регистрация всех проявлений заболеваний, а также заболеваемости, отслеживается динамика распространения, смертности летальности.

Источниками такой информации могут служить данные официальной статистики, а также отчетность соответствующих медицинских организаций (центры планирования семьи и репродуктивного здоровья, поликлиник, женских консультаций, стационаров акушерско-гинекологического профиля). Эпидемиологический анализ изучаемой информации должен быть нацелен на выявление тенденций в динамике изучаемых процессов, а также территорий риска. Сбор и анализ информации о качестве и эффективности проводимых лечебнодиагностических мероприятий должен проводиться на основе мониторинга, получаемых медицинских организаций, клинического ИЗ обслуживающих беременных. Эпидемиологическое наблюдение распространением инфекций ToRCH-группы включает регистрацию новых случаев заболевания, число которых обозначается как в абсолютных числах, так и в относительных величинах, рассчитываемых на 100 тыс. соответствующего населения. Данная форма эпидемиологического надзора предполагает констатацию имеющегося на настоящий момент состояния распространения инфекции, а также позволяет проводить анализ заболеваемости в динамике, отмечая тенденции распространения заболевания и тренды заболеваемости (снижение, повышение) в отдельных географических регионах и группах населения.

Из этих же источников получается информация о возможных факторах риска, способствовавших развитию осложнений беременности и родов и перинатальной передаче возбудителей, которая с применением методов эпидемиологической диагностики анализируется для установления причинно-следственных связей.

Диагностическая подсистема предусматривает установление эпидемиологического диагноза (определение типа эпидемического процесса, его источника, путей и факторов передачи, а также групп населения, подверженных риску) и прогнозирование эпидемиологической ситуации через анализ многочисленных информационных источников, включая оценку вероятности возникновения, распространения и тяжести эпидемии на основе данных о заболеваемости, факторах риска и эффективности превентивных мероприятий.

Эпидемиологическая диагностика должна учитывать результаты специальных исследований, направленных на установление причин и условий, оказывающих негативное влияние на репродуктивное здоровье женщин с целью разработки основных направлений профилактики, в том числе с учетом меняющихся рисков инфицирования. Система эпидемиологического надзора должна содержать информационные программы, нацеленные на информирование населения о проблемах, связанных с репродуктивным здоровьем женщин, способах минимизации рисков инфицирования женщин фертильного возраста, а также мерах профилактики хронических воспалительных заболеваний органов малого таза.

Вместе с тем в настоящее время немаловажное значение в распространении инфекции имеют свойства возбудителя, в том числе биологические (фенотипические и генотипические) особенности штаммов, циркулирующих в отдельных популяциях, что может быть связано с географическим положением региона или с принадлежностью части населения к какой-либо группе (например, к группе риска). Выявление биологических особенностей штаммов возбудителей и изучение закономерностей их распространения лежат в основе молекулярной эпидемиологии — современного направления эпидемиологического надзора.

такой Основная задача диагностики – предупредить эпидемической ситуации, которая может перейти из обычного состояния для определенной территории и времени в критическое. Предэпидемическая диагностика направлена на прогностические цели, то есть на предвидение возможного ухудшения эпидемиологической ситуации на основе ранних признаков активизации эпидемического процесса. Предпосылки ухудшения эпидемиологической ситуации – это естественные и социальные факторы, которые способствуют активизации эпидемического процесса, воздействуя на механизм передачи возбудителя и на популяции паразита, переносчика или хозяина. Предвестники – это признаки начала усиления эпидемического процесса, характерные для каждой группы инфекционных заболеваний. Типичные признаки ухудшения эпидемиологической ситуации при конкретном инфекционном возбудителя. заболевании передачи Проведение зависят OT механизма

предэпидемической диагностики требует согласованной работы эпидемиологов и гигиенистов, а также оперативного обмена информацией о эпидемиологической обстановке и санитарно-гигиеническом состоянии. Установление эпидемиологического диагноза осуществляется в процессе ретроспективного и оперативного анализа эпидемиологических данных.

Управленческая подсистема эпидемиологического надзора — это комплекс мероприятий, направленных на организацию и координацию деятельности всех подсистем системы эпидемиологического надзора. Система эпидемиологического надзора для принятия управленческих решений должна руководствоваться необходимой и достаточной информацией для объективной оценки ситуации по инфекциям ТоRCH-группы с ее последующим прогнозированием. Эпидемиологический надзор предполагает в обязательном порядке принятие управленческих решений, издание нормативных документов, прогнозирование заболеваемости с использованием различных технологий и т.п., основанных на данных проведенной эпидемиологической диагностики.

Ключевым звеном в любой системе эпидемиологического надзора является своевременное реагирование на возникновения эпидемиологического неблагополучия с целью не допустить распространения проблемы.

Однако в рамках существующей традиционной системы эпидемиологического надзора за инфекциями ТоRCH-группы становится сложным и зачастую невыполнимым. Традиционная система эпидемиологического надзора использует трудоемкие и затратные методы для сбора данных, которые затем проходят через несколько уровней различных инстанций до их подтверждения. Такая система требует времени и может задержать ответные меры для сдерживания инфекционных заболеваний. В традиционной системе наблюдения используются официальные данные о числе заболеваний, которые могут быть занижены. Получение и анализ официальных данных об инфекциях и, как следствие, реагирование на них – является медленным процессом.

Ограниченная форма учета инфекций ToRCH-группы приводит к тому, что заболеваемость в Российской Федерации в значительной степени не регистрируется и не учитывается.

Предлагаемая программа эпидемиологического надзора за инфекциями ТоRCH-группы должна определять следующие моменты:

- цель и задачи планируемого надзора;
- территорию, охватываемую надзором;
- часть или группу (группы) населения, берущуюся под надзор, и длительность предстоящего периода наблюдения;
 - характер и объем информации, подлежащей сбору;
- источники получения информации (клинические, микробиологические, вирусологические лаборатории, ветеринарная служба и др.);
- способы и периодичность сбора первичной информации, частоту (периодичность) анализа информации, методы анализа информации, первичные и окончательные формы таблиц и отчетности, способы представления отчетности.

При организации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы проводится (рисунок 8.2):

- слежение за заболеваемостью (носительством) среди людей и анализ заболеваемости;
- слежение за циркуляцией возбудителя с определением его биологических свойств;
 - слежение за иммунологической структурой населения;
- раннее выявление больных (носителей) и лиц с подозрением на инфекционное/инвазионное заболевание;
 - слежение за качеством факторов передачи возбудителей.

Эпидемиологический надзор за инфекциями ТоRCH-группы

инновационного способа выявления и лабораторного наличие маркеров ЦМВИ, краснухи, токсоплазмоза и количественного определения ДНК на основе В результате диссертационного исследования активной ВГЧ-6а/b-инфекции с применением исследования биологического материала на молекулярно-генетического мониторинга за с использованием методики качественного расширенного лабораторного обследования новорожденных с выявленными маркерами Молекулярно-биологического мониторинга подтверждения наследуемого хиВГЧ-ба/b возбудителями ТоRCH-группы краснуха, токсоплазмоз, цитомегаловирусная инфекция пцр-рв, от-пцр-рв; на основе: Информационная подсистема • раннее выявление больных (носителей); (носительством) среди людей и анализ мониторинг резистентности штаммов • слежение за качеством факторов Эпидемиологический мониторинг: слежение за иммунологической слежение за заболеваемостью заболеваемости (многолетняя, выявление территорий риска; выявление время риска; выявление групп риска; передачи возбудителей; структурой населения; внутригодовая); возбудителей составе групп риска, распространенности среди хроническим эндометритом и невынашиванием с положительными результатами на инфекции • о распространенности инфекций среди групп них инфекций, влияющих на репродуктивное беременности в анамнезе вне беременности; фертильности, численности и возрастном риска путем расширения обязательного данные о демографической ситуации, с гистологически верифицированным • данные о новорожденных от матерей скрининговое обследование женщин здоровье, а также факторах риска; диагностического скрининга; Сбор и анализ информации: ТоRСН-группы

стратегических решений и последующей оценки эффективности планированию, организации и корректировке осуществляемых Выработка научно обоснованного комплекса управляющих Издание нормативных документов, основанных на данных Разработка управленческих решений, рекомендаций по проведенной эпидемиологической диагностики; мероприятий; Установление эпидемиологического диагноза (определение типа Прогнозирование заболеваемости с использованием различных эпидемического процесса, его источника, путей и факторов передачи, а также групп населения, подверженных риску) с использованием ретроспективного и оперативного Анализ и оценка эпидемиологических данных; эпидемиологического анализа;

Управленческая подсистема

Диагностическая подсистема

Рисунок 8.2 – Эпидемиологический надзор за инфекциями ТоRCH-группы

цифровых технологий

всей системы эпидемиологического надзора

Функциональную структуру системы эпидемиологического надзора можно представить в виде последовательной цепи мероприятий:

- наблюдение на месте, сбор и регистрация информации;
- поэтапная передача данных по вертикали или снизу-вверх, то есть от нижестоящих в вышестоящие уровни (звенья, подсистемы) системы эпидемиологического надзора (районные, областные, краевые, республиканские, федеральный уровни). Информация о движении инфекционной заболеваемости распространяется в виде: периодических отчетов, донесений о вспышках;
- обмен информацией по горизонтали между заинтересованными ведомствами и учреждениями (на уровне районов, областей, краев, республик, страны), а также информирование граждан;
- эпидемиологический анализ и оценка данных по программам, специфичным для каждого уровня эпидемиологического надзора;
- оценка эпидемической ситуации, т.е. постановка предварительного эпидемиологического диагноза;
- обмен информацией по принципу обратной связи, или сверху вниз, т.е. распространение обобщенной информации от вышестоящих в нижестоящие уровни (звенья, подсистемы) системы эпидемиологического надзора. Информация поступает в виде информационных писем; бюллетеней; методических документов, распоряжений, приказов и др.;
- разработка управленческих решений, рекомендаций по планированию,
 организации и корректировке осуществляемых мероприятий;
- разработка прогноза развития эпидемиологической ситуации (рисунок
 8.2.).

Таким образом, правильно выстроенная система эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы может отражать реальную эпидемиологическую ситуацию и тем самым дает возможность контролировать эпидемический процесс. Стратегия борьбы с инфекциями ToRCH-группы должна включать целенаправленный подход, ориентируясь на следующие ключевые

направления работы: придание важности санитарному просвещению, усиление эпидемиологического надзора (мониторинга).

Для того, чтобы повысить качество и эффективность эпидемиологического надзора и проводимых профилактических, противоэпидемических мероприятий, необходимы обновление системы надзора в направлении унификации современных протоколов диагностики, лечения и учета случаев заболевания, замена устаревших методов диагностики на высокоэффективные методы, а также актуализация нормативных документов, регулирующих организационные аспекты системы учета и регистрации инфекций ToRCH-группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день проблема ToRCH-инфекций не теряет своей актуальности, медико-социальной значимости. Во многом это обусловлено рядом факторов, включая широкую распространенность большинства потенциальных возбудителей в мире, отсутствие патогномоничных клинических симптомов и бессимптомное течение заболевания у иммунокомпетентных лиц, терратогенные свойства возбудителей и возможность вертикальной передачи, определяющие высокий риск развития патологии у плода или новорожденного при первичном инфицировании/инвазировании женщины во время беременности, пери- и постнатальные потери, неблагоприятное воздействие на здоровье приводящее в ряде случаев к инвалидизации и снижению качества жизни и др. Оценка масштабов проблемы ToRCH-инфекций, определение уровня и тенденций заболеваемости стране возможны в рамках существующей эпидемиологического надзора, однако для ряда инфекций, входящих в ToRCHкомплекс или являющихся кандидатами для включения в него, эта система только формируется или нуждается в усовершенствовании.

В связи с вышеизложенным, проведено диссертационное исследование. Цель которого заключалась в совершенствовании эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы путем разработки и внедрения комплекса молекулярно-биологических методов диагностики.

Для достижения поставленной цели решены следующие задачи:

- 1. Изучена динамика уровня и структуры заболеваемости инфекциями ТоRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, ЦМВИ) в Российской Федерации.
- 2. Разработан, валидирован и апробирован комплекс методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей ТоRCH-инфекций на основе ПЦР, ОТ-ПЦР.

- 3. Научно обоснована необходимость внедрения методик на основе ПЦР, ОТ-ПЦР в алгоритмы диагностики инфекций ТоRCH-группы и оценена эффективность их использования.
- 4. Разработаны методические подходы к определению этиологической роли *R.humanbeta6a/b* в развитии ВУИ и врожденной патологии.
- 5. Оценена экономическая целесообразность внедрения способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b для диагностики инфекций ToRCH-группы у новорожденных.
- 6. Научно обоснованы и предложены пути совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов.

В теоретической части работы дана оценка современному состоянию проблемы трех основных инфекций ТоRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, ЦМВИ), а также инфекций, вызванных ВГЧ-6а и ВГЧ-6b (ВГЧ-6а/b), являющихся кандидатами к отнесению к инфекциям ТоRCH-группы к подгруппе «другие», в том числе приведены эпидемиологические особенности, подробно описаны основные методы, используемые в лабораторной диагностике данных инфекций.

В третьей главе выполнен ретроспективный анализ динамики уровня, структуры и территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом, краснухой (нозологические формы: краснуха, СВК) и цитомегаловирусной инфекцией (нозологические формы: ЦМВБ, врожденная ЦМВИ). Показано, что многолетняя динамика заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила волнообразный характер с периодами подъемов и спадов и характеризовалась тенденцией к снижению уровня заболеваемости на 3,36% (p=0,029). Установлена длина цикла многолетних колебаний равная 11 годам. Среднемноголетний показатель заболеваемости токсоплазмозом в Российской Федерации в 2009-2023 гг. составил $0,36^0/_{0000}$. Выявлена существенная неравномерность территориального распределения по федеральным округам и субъектам страны с превышением среднероссийского

показателя заболеваемости токсоплазмозом в 3,53 раза в Уральском $(1,27^{0}/_{0000})$ и 1,64 раза в Центральном $(0,59^{0}/_{0000})$ федеральных округах. Максимальный уровень заболеваемости токсоплазмозом за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения зарегистрирован в городе Москве $(1,54^{0}/_{0000})$ Центрального федерального округа, что выше среднероссийского показателя в 4,28 раза и сопредельных с мегаполисом субъектов (Московская, Владимирская, Рязанская, Тульская, Калужская, Тверская, Ярославская области) в 9,06-51,33 раз (p<0,0001). Смоленская, Установлено преобладание среди заболевших токсоплазмозом взрослого (87,82%),(85,26%). населения преимущественно городских жителей Среднемноголетний показатель заболеваемости взрослых $(0.40^{0}/_{0000})$ был в 1,74 раза выше, чем детей $(0.23^{\circ}/_{0000})$. В возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом детского населения в стране в 2009-2023 гг. наблюдалось преобладание детей в возрасте 7–14 лет (36,46%). Врожденный токсоплазмоз не подлежит официальной регистрации на сегодняшний момент, поэтому нами прицельно проанализированы данные по возрастной группе детей до года за 15летний (2009–2023 гг.) период наблюдения. При этом, динамика заболеваемости детей первого года жизни характеризовалась периодами подъемов и спадов с пиковым значением в 2011 г. $(2,71^{0}/_{0000})$, в 2019—2021 (период пандемии COVID-19) и 2023 гг. (период после пандемии COVID-19) не зарегистрировано ни одного случая. Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом детей первого года жизни составил $0.86^{0}/_{0000}$, что превышало среднемноголетние показатели среди детского населения других возрастных групп и взрослых в 4,53-7,17 и 2,15 раз (p < 0,0001), соответственно, и вызывало настороженность. За период 2009–2023 гг. выявлено 248 случаев токсоплазмоза у детей первого года жизни в 17 (20%) из 85 регионов Российской Федерации. В Архангельской области и Республике Ингушетия 67,53 и 65,17% выявленных случаев, соответственно, приходились на детей данной возрастной группы. По нашему мнению, установленная неравномерность территориального распределения в стране, обусловлена особенностями выявления, учета и регистрации заболеваемости токсоплазмозом населения в регионах. Данная ситуация во многом может

объясняться различными подходами, используемыми при этиологической расшифровке случаев заболевания токсоплазмозом в клинической практике, в частности применения различных методов лабораторной диагностики при верификации диагноза. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований отечественных ученых С. Г. О. Марданлы (2016) [15], С. М. Казарян (2019) [280]. Так, С. Г. О. Марданлы установил превышение среднероссийских показателей заболеваемости токсоплазмозом в Тюменской области (в 15 раз), городе Москве и Липецкой области [15]. С. М. Казарян отмечала территориальные различия в уровнях и динамике заболеваемости токсоплазмозом в отдельных субъектах Урала и Центральной России с максимальными показателями в Тюменской (80/0000) и Свердловской (20/0000) областях, городе Москве (1,20/0000) [280]. Оба автора указывали на недостатки системы эпидемиологического надзора за токсоплазмозом и предлагали пути их устранения.

В Российской Федерации благодаря совершенствованию эпидемиологического надзора, организации и проведению специфической вакцинопрофилактики эпидемиологическая ситуация по краснухе благополучная. По данным за 2023 г. статус элиминации данного заболевания на территории страны подтвержден. Достигнуто многократное снижение уровня заболеваемости краснухой населения в более, чем 55 тыс. раз (1996 г. – $116,94^{0}/_{0000}$ (согласно данным BO3), $2023 \, \Gamma$. $-0.0021^{0}/_{0000}$), с $2016 \, \Gamma$. не зарегистрировано ни одного случая СВК. В 2007–2023 гг. многолетняя динамика заболеваемости краснухой в стране $(R^2=0.907)$. экспоненциальный характер падения демонстрировала Среднемноголетний уровень заболеваемости краснухой и СВК снизился в 341,54 и 22,06 раз в 2014–2023 гг. по сравнению с периодом 2007–2013 гг. соответственно. При анализе территориального распределения заболеваемости краснухой за период с 2014 по 2023 гг. установлено превышение среднероссийского показателя $(0.013^{0}/_{0000})$ в 1,77 раза в Северо-Западном федеральном округе $(0.023^{0}/_{0000})$, где лидирующие позиции занимали Новгородская область (0,09970/0000) и город Санкт-Петербург $(0.0432^{0}/_{0000})$. Отмечалось «повзросление» краснухи: в 2014—2023 гг. среднемноголетний показатель заболеваемости взрослых (0,0133%) был в 1,23

раза выше, чем детей до 17 лет включительно $(0.0108^{\circ}/_{0000})$. В этот же временной период среднемноголетний показатель заболеваемости краснухой детей в возрасте 1-2 года $(0.0375^{0}/_{0000})$ превышал среднемноголетние уровни заболеваемости данной инфекцией среди детского населения других возрастных групп и взрослых в 3,10–8,15 и 2,82 раз (p<0,001) соответственно. Сравнительный анализ возрастной структуры заболеваемости краснухой среди детского (0–17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения позволил выявить рост в 4,81 раза удельного веса взрослых среди заболевших в 2014–2023 гг. (82,89%) по сравнению с периодом 2007–2013 гг. (17,25%) с преобладанием городских жителей, что может быть обусловлено наличием проблем, связанных с организацией и проведением мероприятий по иммунопрофилактике этой инфекции среди взрослого населения. В возрастной структуре заболеваемости краснухой детского населения в Российской Федерации в 2007–2013 гг. преобладали дети в возрасте 7–14 лет (55,70%), в 2014-2023 гг. -1-2 года (40,63%) преимущественно городские жители, что, по-видимому, было также обусловлено недостатками в организации мероприятий по специфической вакцинации. Расчетные данные отношения числа случаев СВК к числу случаев краснухи, позволили установить наличие существенных проблем, связанных с недовыявлением случаев СВК – не менее, чем в 24,07 раз за период с 2003 г. по 2023 г., что требует более активного внедрения в существующие диагностические алгоритмы современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности и чувствительности, в частности молекулярно-биологических методов. Следует отметить, недовыявлении случаев СВК в Пермском крае сообщала Н. М. Мокова (2009) [281]. Η. M. Мокова исследования, рамках посвященного определению эпидемиологической, социальной и экономической значимости СВК в России, продемонстрировала, что при регистрации на исследуемых территориях Пермского края за период с 1998 по 2006 гг. 29 348 случаев краснухи число случаев СВК должно составлять 38 (активно выявлено 37 случаев) [281]. Исследователем подчеркивается, что даже при низком уровне заболеваемости краснухой риск возникновения СВК сохраняется [281].

Многолетняя динамика заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила волнообразный характер, с тенденцией к снижению уровня заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2013 г. (пикового подъема) в 1,7 раза (2013 г. – 2,09 $^{0}/_{0000}$, 2023 г. – 1,23 $^{0}/_{0000}$). При анализе заболеваемости врожденной многолетней динамики цитомегаловирусной инфекцией выявлено наличие прямолинейной тенденции к снижению ее уровня в среднем на 6.91% (p < 0.001). Среднемноголетний показатель заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период изучения составлял $1{,}42^{0}/_{0000}$, врожденной ЦМВИ $-0{,}13^{0}/_{0000}$. Отмечена существенная неравномерность территориального распределения как ЦМВБ, так и врожденной ЦМВИ по субъектам страны (p<0,001). Лидирующая позиция по уровню заболеваемости ЦМВБ среди субъектов Центрального федерального округа за весь период наблюдения принадлежала городу Москве (4,38%/0000) с превышением среднероссийского показателя в 3,09 раз. Одновременно с этим, в ряде субъектов Центрального федерального округа (Тамбовская, Ярославская, Московская области) показатели заболеваемости данной инфекцией в тот же период были ниже, чем в городе Москве в 27,38–73 раз (p<0,0001). Схожая ситуация прослеживалась и при анализе уровня заболеваемости врожденной ЦМВИ. Самый высокий показатель заболеваемости данной нозологической формой, превышающий среднероссийский уровень в 42,39 раз, зарегистрирован в Республике Ингушетии $(5,51^{0}/_{0000})$ Северо-Кавказского федерального (p < 0.0001). округа Среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ в Российской Федерации в 2009-2023 гг. составлял среди взрослых $0.83^{0}/_{0000}$, детей в возрасте 0-17 лет включительно $-3,83^{0}/_{0000}$. Наиболее высокий среднемноголетний уровень заболеваемости ЦМВБ отмечен среди детей в возрасте до года $(23.86^{\circ}/_{0000})$, который превышал в 2,70–28,07 раз аналогичные параметры других возрастных групп детского населения страны. Сравнительный анализ динамики возрастной структуры заболеваемости ЦМВБ показал увеличение в 1,38 раза доли взрослого населения с 46,13% (2009 г.) до 63,59% (2023 г.) (p<0,0001) и преобладание среди заболевших городских жителей. Среднемноголетний уровень заболеваемости

врожденной ЦМВИ в 17,39 раз выше среди городских жителей, чем среди жителей сельских поселений. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований по изучению эпидемического процесса других авторов [15,280]. В тоже время согласно мнению, представленным В. И. Шахгильдяном, официальные статистические данные по врожденной ЦМВИ занижены. При частоте врожденной ЦМВИ, составляющей ~0,5–1% среди живых новорожденных, количество младенцев, антенатально инфицированных ЦМВ, в 2019 г. должно насчитывать от 8000 до 16 000 в стране (количество родов 1 648 954) и от 700 до 1400 в городе Москве (количество родов 137 355), из них 800–1600 и 70–140 соответственно должны иметь клинически выраженную форму болезни [282].

В целом, установленная существенная неравномерность территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом, ЦМВБ и врожденной ЦМВИ в Российской Федерации, разрезе субъектов расчетные показатели, свидетельствующие о недовыявлении случаев СВК (не менее, чем в 24,07 раз за период с 2003 г. по 2023 г.), подтверждают наличие недочетов в учете и регистрации данных нозологических форм, использование различных подходов при проведении лабораторного подтверждения и интерпретации полученных результатов. Это обуславливает необходимость широкого внедрения единых научно-обоснованных критериев стандартного определения случая заболевания, повышения качества лабораторной верификации путем применения современных методов лабораторной диагностики с высокими показателями специфичности и чувствительности, в том числе молекулярно-биологических методов.

Для решения данной задачи проведена научная разработка, валидация, апробация комплекса методик, включающего четыре авторские методики, предназначенные для определения нуклеиновых кислот основных возбудителей инфекций ТоRCH-группы (ДНК *T.gondii*, РНК *R.rubellae*, *C.humanbeta5*) и рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ТоRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, патогенных для человека: *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*) в качественном, качественном и количественном форматах в

различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Материалом для проведения ПЦР-РВ или ОТ-ПЦР-РВ служат пробы нуклеиновых кислот, экстрагированные из различного биологического материала (n=13 видов). Разработанные обладают методики высокими аналитическими И диагностическими характеристиками, отвечающими современным требованиям и подтвержденными при апробации, в том числе при оценке внутреннего (методика для качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и *R.humanbeta6b*) и внешнего (методика для качественного определения ДНК T.gondii) контроля качества проводимых лабораторных исследований методом сравнительных испытаний относительно вирусологического (методика для качественного определения РНК R.rubellae). Предусмотрена возможность параллельного применения всех четырех методик в составе единого комплекса с использованием одной приборной базы и единой программы амплификации. Принципиальной особенностью методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ проводить одновременно качественные, является возможность качественные и/или количественные определения ДНК или РНК инфекционных агентов путем определения накопления продуктов амплификации непосредственно во время проведения реакции (в режиме реального времени). Подобный подход кроме достоверного увеличения информативности проводимых исследований и сокращения времени на получение результатов анализа позволяет значительно ложноположительных результатов, уменьшив снизить число контаминации реагентов и исследуемых образцов продуктами амплификации, что чрезвычайно важно при масштабировании исследований. Созданные три методики качественного определения ДНК T.gondii, РНК R.rubellae, качественного и количественного определения ДНК R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, явились базисом для разработки наборов реагентов на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ для лабораторной диагностики токсоплазмоза, краснухи, инфекции, вызванной ВГЧба/в у пациентов различного возраста, в том числе при установлении окончательного диагноза и в рамках проведения дифференциальной диагностики. Проведенная валидация набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL»

по ТУ 9398-085-01897593-2012 (РУ № ФСР 2010/09504 от 04 марта 2019 года), выявления и количественного определения ДНК предназначенного ДЛЯ *C.humanbeta5* в биологическом материале методом ПЦР-РВ, относительно стандарта ВОЗ, обеспечила возможность международного сопоставления определения ДНК возбудителя, результатов количественного искомого полученные различными клинико-диагностическими и научными лабораториями, для оценки динамики развития инфекционного процесса и эффективности проводимой терапии. Обоснованность и необходимость данного подхода отмечена рядом зарубежных авторов [283,284,285]. Унификация интерпретации результатов в независимости от используемой методики ПЦР-исследования, путем проведения валидации относительно международного стандарта, важный шаг в дальнейшем изучении биологических свойств ЦМВ, его изменчивости в организме хозяина и совершенствовании диагностики ЦМВИ [283], а также расширении возможности международного сотрудничества по проведению совместных исследований [285]. Наборы реагентов «АмплиСенс® Toxoplasma gondii-FL» по ТУ 9398-081-01897593-«АмплиСенс® 2009, Rubella virus-FL» ТУ 9398-090-01897593-2009, ПО «АмплиСенс $^{\mathbb{R}}$ HHV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 внедрены в производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, технические, клинические испытания и зарегистрированы в установленном порядке в Российской Федерации (РУ № ФСР 2009/06190 от 05 марта 2019 года, РУ № ФСР 2009/05501 от 13 марта 2019 года, РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года соответственно) и за рубежом. Следует отметить, что набор реагентов «АмплиСенс® HHV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года) успешно применяется не только в клинико-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения страны, но и при выполнении научноисследовательских работ [200,201,286,287], а также используется в качестве референтного метода при разработке и проведении технических и клинических испытаний новых медицинских изделий для диагностики *in vitro* [210].

Возможности интеграции медицинских технологий на основе разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ToRCH-группы представлены в пятой главе диссертационного исследования. Особое внимание уделено оценке эффективности применения методики качественного определения РНК R.rubellae на основе ОТ-ПЦР-РВ при верификации диагноза B06 Краснуха [немецкая корь]. Установлено диагностическое преимущество разработанной методики при тестировании образцов слюны и мазка со слизистой оболочки носои ротоглотки (диагностической эффективность – 99,08%, индекс Юдена – 0,97, сводной прогнозный индекс – 0,99) по отношению к традиционно используемому ИФА-тесту, направленному на выявление специфических AT-IgM и низкоавидных AT-IgG (диагностическая эффективность -84,79%, индекс Юдена -0,52, сводной прогнозный индекс -0.77), при обследовании больных краснухой в период разгара заболевания до 5 дня с момента появления сыпи. Наибольшая информативность при исследовании образцов слюны (диагностическая специфичность – 100% (95% ДИ [94,58–100%]), диагностическая чувствительность – 92,54% (95% ДИ [83,69– 96,77%])), по сравнению с образцами плазмы венозной крови, мазка со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, отсутствие инвазивных медицинских манипуляций и простата взятия позволяют рекомендовать данный вид биологического материала как оптимальный для выявления РНК R.rubellae методом ОТ-ПЦР-РВ, с целью лабораторного подтверждения диагноза В06 Краснуха [немецкая корь] в ранние сроки заболевания. Высокий уровень достоверности и прогностическая ценность получаемых результатов при применении разработанной методики качественного определения РНК R.rubellae на основе ОТ-ПЦР-РВ, позволяют рекомендовать внедрение данного подхода при лабораторном обследовании пациентов, в том числе беременных из очагов краснушной инфекции, в ранние сроки заболевания (до 5 дня с момента появления сыпи) для верификации диагноза В06 Краснуха [немецкая корь], своевременно и качественно проводить дифференциальную заболеваний, обосновать диагностику экзантемных тактику противоэпидемического режима. Полученные нами данные в целом не противоречат результатам исследований, представленных зарубежными авторами.

Так, японские исследователи во главе с К. Uchino et al. (2019) установили, что частота обнаружения вирусоспецифических AT-IgM при исследовании образцов сыворотки/плазмы венозной крови в период с 1 по 3 дни с момента появления сыпи составляла менее 50%. Авторы при лабораторном подтверждении диагноза для информативности ОТ-ПЦР-исследования повышения рекомендуют тестирование трех видов биологического материала: одновременное сыворотка/плазма венозной крови, мазок со слизистой оболочки ротоглотки, моча более позднем исследовании D. Kanbayashi al. продемонстрировали уровень РНК возбудителя в различных видах биологического материала в разные сроки развития инфекционного процесса. приобретенной краснухе медиана концентрации РНК вируса снижалась до неопределяемого уровня на второй день после появления сыпи в мононуклеарных клетках венозной крови, третий день – в сыворотке/плазме венозной крови, 6–7 день – в моче и 10–13 день – в мазках со слизистой оболочки ротоглотки [115]. В США обнаружение РНК R.rubellae в биологическом образце (мазок со слизистой оболочки из носоглотки, мазок со слизистой оболочки ротоглотки, моча) методом ОТ-ПЦР-РВ является основанием для лабораторного подтверждением диагноза. Согласно рекомендациям, сбор образцов биологического материала в течении 1–3 дней с момента появления сыпи повышает чувствительность метода [121].

Возможности интеграции диагностических технологий на основе разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ТоRCH-группы дополнительно рассмотрены при диагностике краснухи у беременных и ВУИ у новорожденных, токсоплазмоза у беременных и проведения верификации врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей грудного возраста с перинатальным поражением ЦНС. Установлено диагностическое преимущество комплекса разработок с использованием современных диагностических подходов, включающих молекулярно-биологические методы исследования, при проведении пренатальной диагностики и в рамках верификации врожденной инфекции. Полученные нами данные по диагностическому преимуществу использования методики качественного определения ДНК *Т.gondii* на основе ПЦР-РВ для

пренатальной диагностики ВУИ согласуются с многочисленными исследования, демонстрирующими высокие показатели диагностической специфичности (~100%) и чувствительности (~90%) при ПЦР-исследовании амниотической жидкости [45,64,289,290].

Одно из ведущих мест в этиологии внутриутробного и постнатального поражения центральной нервной системы (ЦНС) занимают вирусные инфекции. Наиболее часто среди врожденных инфекций встречается ЦМВИ, для которой характерно не только развитие острых тяжелых форм заболевания, но и стертое течение у новорожденных и детей первого года жизни, с риском формирования прогностически неблагоприятных последствий. Ведущими проявлениями врожденной ЦМВ являются поражения головного мозга (до 50%), органов слуха (до 42,9%) и печени (до 26%) [291,292,293,294]. В рамках выполнения диссертационной работы нами проведено изучении частоты выявления ЦМВИ у детей первого года жизни с перинатальным поражением ЦНС, уточнены особенности клинико-лабораторной характеристики врожденной ЦМВИ у детей данной группы и научно обоснована необходимость применения молекулярнобиологических методов (ПЦР) в рамках комплексной диагностики. У 27,08% (39/144; 95% ДИ [20,49–34,87%]) детей в возрасте до года с перинатальным ЦНС поражением на основании комплексного клинико-лабораторного обследования верифицирована врожденная ЦМВИ. При этом у 15,97% (23/144; 95% ДИ [10,89–22,83%]) обследованных детей тяжесть неврологической симптоматики и отсутствие положительной динамики реабилитационной терапии были обусловлены активностью ЦМВИ (ДНК вируса обнаружена во всех обследованных локусах). У детей с перинатальным поражением ЦНС ЦМВэтиологии достоверно чаще выявляли гиперкинетический синдром (p=0.012), снижение слуха (p=0.019), длительную и выраженную желтуху (p=0.007), изменения в гемограмме (анемия, тромбоцитоз) (p=0.008). Показано, что при подозрении на ЦМВИ у детей первого года жизни необходимо проводить комплексное клинико-лабораторное обследование с использованием молекулярнобиологических (ПЦР-РВ) как основных и иммунохимических (ИФА) как

дополнительных методов. Проведение комплексного клинико-лабораторного обследования новорожденных и детей первого года жизни с перинатальным поражением ЦНС позволяет своевременного верифицировать врожденную ЦМВИ для снижения тяжести поражения ЦНС и прогностически неблагоприятных последствий.

Шестая глава диссертационного исследования посвящена разработке методических подходов к определению этиологической роли *R.humanbeta6a/b* в развитии ВУИ и врожденной патологии. Отправной точкой данной разработки послужили представленные нами первые случаи выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b у детей грудного возраста в Российской Федерации. В ходе расшифровки случаев внутрисемейной передачи для выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса показаны возможности использования молекулярно-биологических методов: ПЦР-РВ в количественном формате с расчетом соотношения количества специфической ДНК вируса к клеткам человека (lg копий ДНК ВГЧ-6a/b/10⁵ клеток человека) при различного биологического материала, тестировании образцов ПШР специфическими праймерами, комплементарными участку вирусной ДНК и хромосом человека, с последующим проведением реакции секвенирования (по Сэнгеру), полногеномное секвенирование. Расшифровка данных потребовала проведения длительного динамического наблюдения (контроль ДНКемии) и обследования ближайших родственников пациентов с подозрением на наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус (подтверждение наследственной передачи). Достоверно свидетельствовали об эндогенной хромосомно-интегрированной форме вируса: концентрация ДНК ВГЧ-6a/b 5,09+0,12 lg копий/ 10^5 клеток венозной крови, сохраняющаяся с течением времени; обнаружение ДНК ВГЧ-6а/b в образцах волосяных фолликулов и/или ногтевых пластин $(5,05+0,14 \text{ lg копий}/10^5 \text{ клеток и}$ 5,62+0,22 lg копий/ 10^5 клеток соответственно); определенный сайт интеграции при обследовании членов одной семьи F1 (одинаковый для матери и ребенка – 17p хромосома, для дедушки по материнской линии исследование не проводилось).

Внутрисемейная наследственная передача хиВГЧ-6а дополнительно подтверждена данными полногеномного секвенирования. Следует подчеркнуть, что проведенное иммунохимическое исследование (ИФА) не позволило получить достоверной информации о наличии или отсутствии хиВГЧ-6а/b-статуса. Обнаружение вирусоспецифических АТ в образцах сыворотки венозной крови обследованных указывало лишь на то, что на текущий момент уже произошло инфицирование экзогенным ВГЧ-6а/b, а их отсутствие, в свою очередь, свидетельствовало об обратном.

Полученные результаты согласуются с представленными ранее данными исследователей демонстрировавших, что при хромосомной интеграции, передаваемой по наследству, вирусная ДНК может быть выделена из каждой ядросодержащей клетки в организме в соотношении не менее 1:1 [151,162,185,295]. В подобном случае высокие концентрации ДНК ВГЧ-6а/в в крови или других локусах без увеличения в динамике не свидетельствуют о развитии инфекционного процесса. А обнаружение специфической ДНК ВГЧ-6а/b в образцах волосяных фолликулов и/или ногтевых пластин подтверждает наличие хромосомно-интегрированной эндогенной формы вируса [212,213]. Лабораторное подтверждение хиВГЧ-6а/b-статуса вне реактивации является обоснованием для исключения активной инфекции, вызываемой ВГЧ-6а/b, и проведения излишней противовирусной терапии [185,296]. За время динамического наблюдения достоверных доказательств негативного влияния хиВГЧ-ба, передаваемого по наследству, на состояние здоровья ребенка, матери, дедушки ребенка по материнской линии в первом клиническом случае, а также хиВГЧ-6b, передаваемого по наследству, на состояние здоровья новорожденных девочки (первый ребенок из двойни) и мальчика (второй ребенок из двойни), отца новорожденных во втором клиническом случае не выявлено. Реактивация наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b не установлена. Лабораторное подтверждение хиВГЧ-6b-статуса новорожденных во втором клиническом примере явилось основанием для корректировки проводимой комплексной терапии (отмены менее, возможность реактивации хиВГЧ-6а/b ганцикловира). Тем не

последующим негативным влиянием на организм человека не исключена [194,195]. На сегодняшний день исследования, подтверждающие возможность реактивации хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, продолжаются [167,295].

Дальнейшее изучение феномена наследуемой хромосомной интеграции R.humanbeta6b R.humanbeta6a И В Российской Федерации потребовало последовательного проведения: разработки способа экстракции из образцов ногтевых пластин, разработки доступного, достоверного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b, оценки распространенности хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации.

Разработанный нами способ экстракции нуклеиновых кислот позволяет высокими аналитическими показателями ПО сравнению предложенными ранее методиками (не менее чем в 2,08 и 1,92 раза больше для ДНК (до 89,1 нг/мл) и РНК (до 454,0 нг/мл), соответственно, по сравнению с прототипом) осуществлять одновременно процедуру выделения и очистки нуклеиновых кислот из таких «сложных» видов биологического материала как ногтевые пластины без значительного увеличения продолжительности процедуры и удорожания процесса. В разработанном способе экстракции, основанном на принципе преципитации, для того, чтобы свести к минимуму потери тотальной ДНК/РНК и достигнуть максимально возможного удаления ингибиторов ферментативных процессов ПЦР и ОТ-ПЦР, оптимально подобраны объемы используемых реагентов, а также продолжительность этапов инкубирования и центрифугирования. Полученный препарат нуклеиновых кислот онжом использовать для проведения молекулярно-биологических исследований, в том числе для ПЦР-диагностики в рамках верификации наследуемого хиВГЧ-6а/bстатуса у детей и взрослых. Дополнительно нами впервые сформулированы и внедрены в практическую деятельность правила взятия, транспортировки и хранения образцов ногтевых пластин для последующего анализа с использованием молекулярно-биологических методов, позволяющие свести к минимуму ошибки на преаналитическом этапе [223,264]. Авторская методика [259] явилась основой при создании комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала. Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» внедрен в производство ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, успешно прошел технические, клинические испытания и зарегистрирован в установленном порядке в Российской Федерации (РУ № ФСР 2008/03147 от 24 мая 2024 года).

Необходимость выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного Roseolovirus humanbeta6a/b в кратчайшие сроки, в том числе при дифференциальной диагностике острой ВГЧ-6а/b-инфекции и носительства хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, а также диагностики заболеваний, связанных с активной ВГЧ-6а/b-инфекцией у пациентов с наследуемым хиВГЧ-ба-статусом или хиВГЧ-бb-статусом, потребовало внесения ясности в клиническую интерпретацию результатов специфических методов амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР-РВ) и четкого представления о диагностическом значении концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в биологическом материале. Нами разработан и внедрен в практическую деятельность ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора Эпидемиологии инновационный лабораторный способ выявления и подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/ь, позволяющий с 99% верификацию наследуемого хиВГЧ-ба-статуса и вероятностью проводить наследуемого хиВГЧ-6b-статуса, как у детей, так и взрослых, без проведения длительного динамического наблюдения пациентов и обследования ближайших родственников Введение диагностически значимых пороговых концентрации ДНК ВГЧ-6а/b, определяемых методом ПЦР-РВ, в уникальном сочетании биологических образцов – цельная кровь и волосяные фолликулы или цельная кровь и ногтевые пластины пациента, является значительным отличием разработанного способа от решений, представленных другими зарубежными и отечественными исследователями, в том числе Е. В. Мелехиной (2019) [286], Т. А. Солдатовой с соавт. (2023) [297], Н. С. Тян (2024) [197]. Изыскания, выполненные нами в рамках диссертационного исследования, показали, что выявление ДНК ВГЧ-6а/ь методом ПЦР-РВ в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов

только в качественном формате, а также исследование исключительно только этих видов биологического материала без параллельного тестирования цельной крови пациента указанным методом, может приводить к затруднениям интерпретации лабораторного обследования, получаемых данных удлинению сроков диагностического поиска и даже к диагностическим ошибкам. Применяемые в разработанном способе диагностически значимые пороговые значения концентрации вирусной нагрузки в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов, а именно: определение в образце ногтевых пластин ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации не менее $4,91 \lg$ копий/ 10^5 клеток, в образце волосяных фолликулов - не менее 4,70 lg копий/ 10^5 клеток позволяет судить о наличии наследуемого хиВГЧ-6а/b, при условии, что концентрация ДНК ВГЧ-6а/b в образце цельной крови пациента будет находиться в диапазоне от 4,77 до 5,37 lg копий/ 10^5 клеток. Тогда как вирусная нагрузка в образце цельной крови ДНК ВГЧ-6а/в менее 4,77 или более 5,37 lg копий/10⁵ клеток при концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов менее 4,91 и 4,70 lg копий/ 10^5 клеток, соответственно, исключает наличие наследуемого хиВГЧ-6a/b (R.humanbeta6a/b) [267]. Существенным отличием разработанного нами способа является установление не только нижнего порогового значения концентрации ДНК ВГЧба/в в крови, но и верхнего предела этого показателя. Применение данного инновационного способа значительно сокращает период (длительность) этиологической верификации, исключает гипердиагностику ВГЧ-6а/b-инфекции, позволяет в кратчайшие сроки провести своевременный выбор оптимальной тактики ведения пациентов и назначения адекватной терапии, что приводит к снижению неблагоприятных исходов и осложнений, уменьшению стоимости проводимого курса комплексной терапии, сокращению длительности амбулаторного или стационарного лечения (главы 6 и 7, приложение В).

В целом следует признать, что наследование ВГЧ-6а или ВГЧ-6b, интегрированных в теломеры хромосом человека, происходит с низкой частотой в большинстве популяций, исследованных до настоящего времени, и их характеристики изучены еще недостаточно. В Российской Федерации не было

представлено достаточно научных данных, демонстрирующих распространенность хиВГЧ-6b хиВГЧ-6а среди наследуемых населения; описывающих филогенетические особенности циркулирующих клинических изолятов/штаммов хиВГЧ-6а/b, что, безусловно, потребовало более глубокого, детального изучения. При проведении пилотного исследования по изучению распространенности частоту выявления хиВГЧ-6а, передаваемого по наследству, установить не удалось (при частоте выявления хиВГЧ-6b среди условно здоровых лиц в Московском регионе равной 0.38% (1/262, 95% ДИ [0.07-2.13%])), что в большей мере было обусловлено недостаточностью количественной репрезентативности выборки. Этот факт потребовал увеличения объема выборки и расширения географии исследования. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных R.humanbeta6a и R.humanbeta6b среди доноров крови центрального региона европейской части Российской Федерации, согласно результатам проведенного исследования, составила 0.32% (95% ДИ [0.18-0.54%]), в том числе хиВГЧ-6а – 0,10% (4/4149; 95% ДИ [0,04–0,25%]) и хиВГЧ-6b – 0,22% (9/4149; 95% ДИ [0,11– 0,41%]). Представленные нами данные о распространенности наследуемого хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, в целом, согласуются со сведениями, полученными в разных странах мира, демонстрирующими частоту выявления от 0,2 до 2,9%. Так, при тестировании доноров крови в городе Лондоне (Великобритания), установлена распространенность наследуемого хиВГЧ-6b равная 0,8% [298]. В Чешской Республике при обследовании такой же когорты частота выявления хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, составила 0,95% [299], а в США – 0,96% [300]. В 2018 г. Н. Miura et al. установили распространенность эндогенных хиВГЧба и хиВГЧ-бь в Японии равную 0,60%. Представляет интерес тот факт, что в Японии индивидуумы с хиВГЧ-ба-статусом выявлялись чаще, чем с хиВГЧ-бьстатусом (57% и 43% соответственно) [176]. В Российской Федерации, согласно данным полученным нами, в противоположность Японии лица с наследуемым хиВГЧ-6b-статусом выявлялись в 2,25 раза чаще, чем с наследуемым хиВГЧ-6астатусом (69,23% и 30,77% соответственно). Частота выявления хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, у госпитализированных пациентов (n=2019) с ДНК-

емией, обследованных с января 2012 г. по июнь 2022 г. в городе Болонья (Италия), составила 2,6% [214]. В 2021–2023 гг. при обследовании пациентов с виремией ВГЧ-6а/b (n=1909), проходящих лечение в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус подтвержден в 0,3% случаев [297].

Полученные нами данные при проведении филогеномного анализа 17 российских изолятов наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b не противоречат предположению о региональной вариативности геномов эндогенных хромосомноинтегрированных вирусов, передаваемых по наследству. Так, E. Zhang et al. (2017) показали, что геномы наследуемых хиВГЧ-6b, выделенные в Европе более тесно связаны друг с другом, чем с геномами эндогенных хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, из Китая и Пакистана, и значительно отличаются от современных экзогенных штаммов [301]. По мнению данных авторов, по крайней мере, одна группа европейских носителей хиВГЧ-6b, включенных в представленный ими анализ, унаследовала один и тот же геном, интегрированный в одну и ту же аллель теломер, от общего предка, предположительно существовавшего 24 500±10 600 лет назад [301]. В более поздней работе A. Aswad et al. (2021) представили данные, свидетельствующие, что хромосомная интеграция ВГЧ-6а, передаваемого по наследству, произошла в среднем от 31 000 до 124 000 лет назад, а наследуемого хиВГЧ-6b в 10 раз позднее – в среднем от 3500 до 14 000 лет назад [302]. Авторы на основании полученных данных филогеномного анализа поставили под сомнение интеграции экзогенного ВГЧ-6а в хромосомы возможность наследству в текущих обстоятельствах или последующей передачей по реактивации наследуемого хиВГЧ-ба. А также показали значительную схожесть геномов экзогенных и эндогенных изолятов ВГЧ-6ь [302]. Данные факты, несомненно, требуют подтверждения и дальнейшего изучения.

Для консолидации и анализа сведений по распространенности наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b в Российской Федерации и мире, географической стратификации и изучения генетического разнообразия вирусов создана онлайн-платформа «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b»,

находящаяся в открытом доступе. Рассматривается возможность интеграции данной онлайн-платформы в российскую платформу агрегирования результатов расшифровок генома возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний Virus Genome Aggregator of Russia (VGARus) [303]. VGARus представляет собой программно-аппаратный комплекс, содержащий инструменты, необходимые для проведения эпидемиологического анализа в рамках геномного эпидемиологического надзора.

Таким образом, нами впервые в Российской Федерации предложена методология изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, включающая основные компоненты лабораторной хиВГЧ-6а/b-статуса научно диагностики наследуемого c обоснованным молекулярно-биологических методов исследования, применением информационно-аналитический ресурс с возможностью использования для проведения эпидемиологического анализа рамках геномного эпидемиологического надзора:

- способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин, позволяющий получить образец ДНК/РНК c высокой концентрацией (концентрация тотальной ДНК – до 89.1 нг/мл, тотальной РНК – до 454.0 нг/мл), имеющих высокую степень химической очистки, свободных от ингибиторов, пригодных для постановки ПЦР или ОТ-ПЦР и проведения дальнейших молекулярно-биологических исследований, в том числе и при подтверждении наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациентов. Разработанный способ позволяет увеличить выход препарата тотальной ДНК/РНК не менее чем в 1,92 раза по сравнению с используемыми методиками в лабораторной практике, осуществим с применением стандартных технических устройств и оборудования (глава 6);
- методика качественного и количественного определения ДНК *R.humanbeta6a/b* в различных видах биологического материала на основе метода ПЦР-РВ с высокими аналитическими характеристиками чувствительности (400 копий ДНК *R.humanbeta6a/b*/мл исследуемого образца биологического материала) и специфичности (100%), позволяющая осуществлять количественное измерение

концентрации в различных биологических материалах с высокими показателями точности, воспроизводимости, правильности (глава 4);

- инновационный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a/b, основанный на количественном определении специфической ДНК вируса в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ. Введение диагностически значимых пороговых концентраций ДНК R.humanbeta6a/b, определяемых методом ПЦР-РВ, в уникальном сочетании биологических образцов – цельная кровь и волосяные фолликулы или цельная кровь и ногтевые пластины или цельная кровь, волосяные фолликулы, ногтевые пластины пациента в значениях 4,77-5,37 lg копий/ 10^5 клеток, $\geq 4,70$ lg копий/ 10^5 клеток, \geq 4,91 lg копий/ 10^5 клеток для указанных видов биологического материала соответственно – позволяет с 99% вероятностью не только выявить хиВГЧ-6а/b, передаваемый по наследству, но и одновременно провести верификацию наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6b-статуса как у детей, так и взрослых. Данный подход не требует выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников, тем самым сокращая затраченное время на верификацию до 2 ч (глава 6);

— онлайн-платформа «Карта распространенности наследуемых хромосомноинтегрируемых *Roseolovirus humanbeta6a* и *Roseolovirus humanbeta6b*» для сбора, анализа, систематизации, хранения, визуализации данных по распространенности наследуемых хиВГЧ-6a и хиВГЧ-6b в Российской Федерации и мире (глава 6).

Следует отметить, что в ходе выполнения поставленной задачи нами было получено более 10 результатов интеллектуальной деятельности, включая методические рекомендации [223], 2 патента Российской Федерации [208,209], международную заявку, опубликованную в соответствии с договором о патентной кооперации (РСТ), 3 базы данных [240,265,268], 3 программы для ЭВМ [266,272,273], научно-техническую документацию регистрационного досье медицинского изделия. Впервые в Российской Федерации проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов наследуемых хромосомно-

интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика. А в целом, проведен филогеномный анализ более 20 российских клинических изолятов наследуемых хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*. З нуклеотидные последовательности *R.humanbeta6a* [256,257] и *R.humanbeta6b* [271] депонированы в международную базу данных NCBI [224].

В сельмой главе диссертационного исследования рассмотрена экономическая составляющая внедрения современных диагностических решений при оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы на основе применения молекулярно-биологических методов. Установлено, что прямые медицинские затраты, обусловленные случаем ВУИ вирусной этиологии у новорожденного, составили по расчетным данным за 2020 г. в городе Москве в ОТ заболевания 32 123,13 степени тяжести OT зависимости ДО 198 567,04 руб./пациента (М=119 598,04 руб./пациента). Показана экономическая целесообразность своевременного выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса при расширенном лабораторном обследовании новорожденных с выявленными маркерами активной ВГЧ-6а/b-инфекции. Затраты на выявление и лабораторное подтверждение хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, не превышали 1671,69 руб./пациента. А именно, при определении ДНК одного микроорганизма методом ПЦР-РВ в двух видах биологического материала (образцы цельной крови, ногтевых пластин или волосяных фолликулов) составили 1114,46 руб., в трех видах биологического материала (образцы цельной крови, ногтевых пластин, волосяных фолликулов) – 1671,69 руб. Таким образом, внедрение в практику здравоохранения города Москвы предложенного способа не несет за собой необоснованные расходы, а, наоборот, позволит сократить затраты здравоохранения. В ходе выполнения поставленной задачи нами получено 3 результата интеллектуальной деятельности: 2 базы данных [277,Ошибка! Закладка не определена.] и программа для ЭВМ [236].

В восьмой главе диссертационного исследования обобщены научно обоснованные направления совершенствования системы эпидемиологического

надзора за инфекциями ToRCH-группы на основе использования современных диагностических решений с учетом расширения ее информационной подсистемы (эпидемиологический, клинико-диагностический и молекулярно-генетический мониторинг), которые позволят оперативно и в полном объеме оценивать эпидемиологическую ситуацию и принимать адекватные ей управленческие решения.

В целом, внедрение представленных в диссертационном исследовании решений, а именно комплекса разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых методов способствует с одной стороны масштабированию исследований, проводимых в рамках изучения инфекций ToRCH-группы, феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, в том числе определения этиологической роли вирусов в развитии ВУИ и врожденной патологии, а также дальнейшего изучения особенностей популяции эндогенных хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, а с другой демонстрирует высокое практическое значение для качественного эффективности лабораторной повышения диагностики И снижения продолжительности диагностического поиска при проведении этиологической верификации, а также в получении и предоставлении достоверных данных в рамках информационной подсистемы эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы в Российской Федерации.

ВЫВОДЫ

- 1. Многолетняя динамика заболеваемости токсоплазмозом населения Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила волнообразный характер, с тенденцией к снижению уровня заболеваемости на 3,36% (p=0.029),существенной неравномерностью территориального распределения по федеральным округам и субъектам страны. Установлено преобладание среди заболевших взрослого населения (87,82%), преимущественно городских жителей (85,26%). Тенденция заболеваемости токсоплазмозом детского населения носила сглаженный характер, со снижением уровня заболеваемости среди детей в возрасте 0–17 лет в 1,85 раза (2009 г. – 0,37 0 / $_{0000}$, 2023 г. – 0,20 0 / $_{0000}$). В возрастной структуре заболеваемости токсоплазмозом детского населения преобладали дети в возрасте 7–14 лет (36,46%). Среднемноголетний уровень заболеваемости токсоплазмозом детей в возрасте до года $(0.86^{\circ}/_{0000})$ превышал аналогичные параметры среди детей других возрастных групп в 4,53-7,17 раз (p < 0.0001).
- 2. В результате реализации масштабной программы элиминации краснухи и предупреждения синдрома врожденной краснухи, включающей мероприятия по проведению специфической вакцинопрофилактики, в Российской Федерации достигнуто многократное снижение уровня заболеваемости в более, чем 55 тыс. раз $(1996 \ \Gamma.-116,94^0/_{0000},\ 2023 \ \Gamma.-0,0021^0/_{0000})$. С $2016 \ \Gamma.$ в Российской Федерации не зарегистрировано ни одного случая синдрома врожденной краснухи. Многолетняя динамика заболеваемости краснухой в стране за 17-летний ($2007-2023\ \Gamma.$) период наблюдения демонстрировала экспоненциальный характер падения ($R^2=0,907$). Сравнительный анализ динамики возрастной структуры заболеваемости краснухой показал увеличение в 4,81 раза доли взрослого населения с 17,25% ($2007-2013\ \Gamma.$) до 82,89% ($2014-2023\ \Gamma.$) (p<0,001) с преобладанием городских жителей.
- 3. Многолетняя динамика заболеваемости цитомегаловирусной болезнью в Российской Федерации за 15-летний (2009–2023 гг.) период наблюдения носила

волнообразный характер, с тенденцией к снижению уровня заболеваемости в 2023 г. по сравнению с 2013 г. (пикового подъема) в 1,7 раза (2013 г. $-2.09^{0}/_{0000}$, 2023 г. $-1,23^{0}/_{0000}$). При анализе многолетней динамики заболеваемости врожденной цитомегаловирусной инфекцией выявлено наличие прямолинейной тенденции к снижению ее уровня в среднем на 6.91% (p < 0.001). Установлена существенная неравномерность территориального распределения заболеваемости цитомегаловирусной болезнью и врожденной цитомегаловирусной инфекцией за анализируемый период по субъектам страны (p < 0.001). Сравнительный анализ динамики возрастной структуры заболеваемости цитомегаловирусной болезнью показал увеличение в 1,38 раза доли взрослого населения с 46,13% (2009 г.) до 63,59% (2023 г.) (*p*<0,0001). В динамике многолетней заболеваемости цитомегаловирусной болезнью отмечалась тенденция к снижению уровня заболеваемости этой инфекцией среди детского населения в 1,22–1,93 раза к 2023 г. (p<0,0001). Среднемноголетний уровень заболеваемости цитомегаловирусной болезнью среди детей в возрасте до года $(23,86^{\circ}/_{0000})$ превысил аналогичные параметры других возрастных групп детского населения в 2,70-28,07 раз (p < 0.0001).

4. Разработаны, валидированы и апробированы методики, предназначенные для качественного и количественного определения ДНК Toxoplasma gondii; РНК Cytomegalovirus humanbeta5, ДНК Roseolovirus rubellae; ДНК humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ с высокими аналитическими и диагностическими характеристиками, возможностью параллельного их применения с использованием одной приборной базы и единой программы амплификации. Разработанные методики явились базисом для создания наборов реагентов на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ лабораторной ДЛЯ диагностики краснухи, токсоплазмоза, цитомегаловирусной инфекции и инфекции, вызванной ВГЧ-6а и ВГЧ-6b, у пациентов различного возраста, в том числе при проведении дифференциальной диагностики, постановке окончательного диагноза.

- 5. Оценка эффективности традиционных лабораторных иммунохимических (ИФА, ХЛИА) и молекулярно-биологических методов при диагностике инфекций ТоRСН-группы показала диагностическое преимущество разработанных методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ, в том числе при верификации диагноза краснуха на ранних этапах развития инфекционного процесса, установлении факта инфицирования плода, верификации диагноза у новорожденных, обследовании детей грудного возраста с перинатальными поражениями центральной нервной системы.
- 6. Разработан и апробирован способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин, позволяющий повысить качество и количество получаемого препарата тотальной ДНК/РНК не менее чем в 1,92 раза (*p*<0,05) по сравнению с используемыми методиками в лабораторной практике, реализуемый с применением стандартных технических устройств, оборудования без значительного увеличения продолжительности процедуры и удорожания процесса. Отсутствие ингибирования ферментативных реакций прохождения ПЦР и ОТ-ПЦР позволяет использовать как ДНК, так и РНК для последующих молекулярнобиологических исследований.
- 7. Разработан и апробирован способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека ба/b, основанный на количественном определении специфической ДНК вируса методом ПЦР-РВ, сокращающий затраченное время на верификацию до 2−4 часов. Определение специфической ДНК вируса в образце цельной крови в концентрации 4,77−5,37 lg копий/10⁵ клеток, а также ≥4,70 lg копий/10⁵ клеток в образце волосяных фолликулов и/или ≥4,91 lg копий/10⁵ клеток в образце ногтевых пластин позволяет с 99% вероятностью провести верификацию наследуемого хиВГЧ-ба-статуса и наследуемого хиВГЧ-бb-статуса у детей и взрослых.
- 8. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b среди доноров крови центрального региона европейской части Российской Федерации составила 0,32%

- $(95\% \, \text{ДИ} \, [0,18-0,54\%])$: хиВГЧ- $6a-0,10\% \, (4/4149; 95\% \, \text{ДИ} \, [0,04-0,25\%])$ и хиВГЧ- $6b-0,22\% \, (9/4149; 95\% \, \text{ДИ} \, [0,11-0,41\%])$.
- 9. Внедрение в практику здравоохранения инновационного способа лабораторного подтверждения хромосомновыявления И наследуемого интегрированного Roseolovirus humanbeta6a/b, основанного на количественном определении специфической ДНК в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ, позволит достичь положительного экономического эффекта, сократить здравоохранения города Москвы и оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе.
- 10. Научно обоснованы направления совершенствования системы за инфекциями ToRCH-группы эпидемиологического надзора использования современных диагностических решений с учетом расширения ее информационной подсистемы (эпидемиологический, клинико-диагностический и молекулярно-генетический мониторинг), что позволяет оперативно и в полном объеме оценивать эпидемиологическую ситуацию и принимать адекватные ей управленческие решения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1. С целью совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ТоRCH-группы, повышения результативности мероприятий в части сбора, учета и эпидемиологического анализа данных по заболеваемости этими инфекциями, рекомендуется использовать комплекс разработок с использованием современных диагностических подходов, включающих молекулярно-биологические методы исследования.
- 2. В рамках изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, в том числе определения этиологической роли вирусов в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии, определения генетических особенностей штаммов/клинических изолятов хиВГЧ-6a и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, рекомендуется использовать комплекс разработок с использованием современных диагностических и научнопоисковых методов.
- 3. На основании полученных нами данных целесообразно рекомендовать использование предложенного инновационного способа для расширенного лабораторного обследования новорожденных с внутриутробной инфекцией с выявленными маркерами активной ВГЧ-6а/b-инфекции для своевременной верификации наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6b-статуса без выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников.
- 4. Для консолидации и анализа данных по распространенности и географической стратификации наследуемых хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b (эндогенных) в стране и мире рекомендуется использование онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных *Roseolovirus humanbeta6a* и *Roseolovirus humanbeta6b*», находящейся в открытом доступе.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

- 1. Изучение эпидемиологической значимости, уточнение истинной роли в развитии перинатальной патологии следующих инфекций, входящих или являющихся кандидатами для включения в ToRCH-группу: инфекции, вызванные ВПГ-1 (S.humanalpha1) и ВПГ-2 (S.humanalpha2); ветряная оспа (возбудитель вирус V.humanalpha3); листериоз (возбудитель грамположительная бактерия L.monocitogenes); парвовирусная инфекция (возбудитель вирус E.primate1); инфекция, вызванная L.humangamma4.
- 2. Изучение генетических характеристик штаммов *T.gondii*, *R.rubellae*, *C.humanbeta5*, *R.humanbeta6a*, *R.humanbeta6b*, циркулирующих в Российской Федерации, и их взаимосвязи с формой развития и тяжестью течения инвазионного/инфекционного процесса.
- 3. Изучение генетического разнообразия хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, их распространенности и географической стратификации в стране и мире.
- 4. Определение роли хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству, в формировании соматической патологии.
- 5. Поиск новых диагностических решений, позволяющих повысить эффективность этиологической диагностики ToRCH-инфекций.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АΓ	' — антиі	ен
Δ	– апти	\cup n

АД – артериальное давление

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АТ – антитело

AT-IgA – специфические антитела, иммуноглобулины класса А

AT-IgG – специфические антитела, иммуноглобулины класса G

AT-IgM – специфические антитела, иммуноглобулины класса М

ВГЧ-3 – вирус герпеса человека 3

ВГЧ-6а – вирус герпеса человека ба

ВГЧ-6а/b – вирус герпеса человека 6а/b

ВГЧ-6b – вирус герпеса человека 6b

ВГЧ-7 – вирус герпеса человека 7

ВГЧ-7 – вирус герпеса человека 8

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВКИ – врожденная краснушная инфекция

ВКО – внутренний контрольный образец

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВПГ-1 – вирус простого герпеса 1

ВПГ-1/2- вирус простого герпеса 1/2

ВПГ-2 – вирус простого герпеса 2

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ГЛФ – готовая лекарственная форма

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение

МАНК – методы амплификации нуклеиновых кислот

МНН – международное непатентованное название

МНО – международное нормализованное отношение

МУ – методические указания

Наследуемый хиВГЧ-6а – хромосомно-интегрированный ВГЧ-6а, передаваемый по наследству

Наследуемый хиВГЧ-6a/b – хромосомно-интегрированный ВГЧ-6a/b, передаваемый по наследству

Наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус — лабораторно подтвержденный факт выявления наследуемого хиВГЧ-6а/b

Наследуемый хиВГЧ-6а-статус — лабораторно подтвержденный факт выявления наследуемого хиВГЧ-6а

Наследуемый хиВГЧ-6b — хромосомно-интегрированный ВГЧ-6a/b, передаваемый по наследству

Наследуемый хиВГЧ-6b-статус – лабораторно подтвержденный факт выявления наследуемого хиВГЧ-6b

НИР – научно-исследовательская работа

ОКО – отрицательный контрольный образец

ОМС – обязательное медицинское страхование

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с предварительной обратной транскрипцией

ОТ-ПЦР-РВ – ОТ-ПЦР в реальном времени

ПКО – положительный контрольный образец

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ – ПЦР в реальном времени

РНИФ – реакция непрямой иммунофлуоресценции

РИФ – реакция иммунофлуоресценции

РНК – рибонуклеиновая кислота

РУ – регистрационное удостоверение

СВК – синдром врожденной краснухи

СОП – стандартный образец предприятия

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

США – Соединенные Штаты Америки

ТУ – технические условия

УЗ-допплерография – ультразвуковая допплерография

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФОМС – фонд обязательного медицинского страхования

ХЛИА – иммунохемилюминесцентный анализ

ЦМВ – цитомегаловирус человека

ЦМВБ – цитомегаловирусная болезнь

ЦМВИ – инфекция, вызванная ЦМВ

ЦНС – центральная нервная система

ЦПД – цитопатическое действие

ЧДД – частота дыхательных движений

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭВМ – электронная вычислительная машина

ЭКГ – электрокардиография

Эхо-ЭГ – эхоэнцефалография

ЭЭГ – электроэнцефалография

CDC – United States Centers for Disease Control and Prevention

COVID-19 - Corona Virus Disease 2019

NCBI – National Center for Biotechnology Information

NIBSC - National Institute for Biological Standards and Control

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Указ Президента Российской Федерации от 22.11.2023 № 875 «О проведении в Российской Федерации Года семьи». [Электронный ресурс]. URL: http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202311220013 (дата доступа 18.06.2024).
- 2. Президент России: официальный сайт. Москва. [Электронный ресурс]. URL: http://www.kremlin.ru/ (дата обращения: 18.06.2024).
- 3. Заплатников, А. Л. Внутриутробные инфекции: диагностика, лечение, профилактика / А. Л. Заплатников, Н. А. Коровина, М. Ю. Корнева, А. В. Чебуркин // Медицина неотложных состояний. 2013. Т. 1, № 48. С. 25–33. ISSN 2224-0586.
- 4. Патент № 2728925 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ диагностики врожденного вирусного заболевания плода: № 2019108627: заявл. 25.03.2019: опубл. 03.08.2020 / В. В. Васильев, А. А. Гринева, Н. В. Рогозина [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства».
- 5. Britt, W. J. Maternal immunity and the natural history of congenital human cytomegalovirus infection / W. J. Britt // Viruses. 2018. Vol. 10, № 8. P. 405. doi: 10.3390/v10080405.
- 6. Dubey, J. P. Congenital toxoplasmosis in humans: an update of worldwide rate of congenital infections / J. P. Dubey, F. H. A. Murata, C. K. Cerqueira-Cézar [et al.] // Parasitology. 2021. Vol. 148, № 12. P. 1406–1416. doi: 10.1017/S0031182021001013.
- 7. Leruez-Ville, M. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI) / M. Leruez-Ville, C. Chatzakis, D. Lilleri [et al.] // The Lancet Regional Health Europe. 2024. Vol. 40. P. 100892.

- 8. Медицинская паразитология: учебно-методическое пособие / В. В. Давыдов, В. В. Григорович, В. Э. Бутвиловский, В. А. Толстой. Минск: БГМУ, 2024. 211 с. ISBN 978-985-21-1486-8.
- 9. Su, C. Globally diverse Toxoplasma gondii isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages / C. Su, A. Khan, P. Zhou [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. − 2012. − Vol. 109, № 15. − P. 5844–5849. − doi: 10.1073/pnas.1203190109.
- 10. Pleyer, U. Toxoplasmosis in Germany / U. Pleyer, U. Gross, D. Schlüter [et al.] // Dtsch Arztebl Int. 2019. Vol. 116, № 25. P. 435–444. doi: 10.3238/arztebl.2019.0435
- 11. Ahmed, M. Toxoplasmosis in pregnancy / M. Ahmed, A. Sood, J.Gupta // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020. Vol. 255. P. 44–50. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.10.003.
- 12. Suzuki, Y. A pathway to cure chronic infection with Toxoplasma gondii through immunological intervention / Y. Suzuki // Parasitol Int. 2021. Vol. 81. P. 102259. doi: 10.1016/j.parint.2020.102259.
- 13. Firmino, S. S. Toxoplasma gondii seropositivity and co-infection with TORCH complex pathogens in pregnant women from Araçatuba, Brazil / S. S. Firmino, T. R. Santos-Doni, V. M. F. Silva [et al.] // Microorganisms. 2024. Vol. 12, № 9. –P. 1844. doi: 10.3390/microorganisms12091844.
- 14. Гончаров, Д. Б. Значение персистенции Toxoplasma gondii в клинической патологии человека / Д. Б. Гончаров // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. № 4. С. 92–97.
- 15. Марданлы, С. Г. О. Эпидемиологический надзор за инфекциями ТОКСНгруппы на основе современных технологий лабораторной диагностики: дис. ... дра мед. наук: 14.02.02, 14.03.10 / Марданлы Сейфаддин Гашим Оглы, науч. конс. В. И. Покровский, В. В. Долгов; ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Москва, 2016. 234 с.

- 16. Kieffer, F. Congenital toxoplasmosis / F. Kieffer, M. Wallon // Handb Clin Neurol. 2013. Vol. 112. P. 1099–1101. doi: 10.1016/B978-0-444-52910-7.00028-3.
- 17. Berdysh, D. Epidemiology of toxoplasmosis / D. Berdysh, R. Mirzoeva, M. Mirzoev, K. Saakova // Danish Scientific Journal. 2020. Vol. 38. P. 27–29.
- 18. Milne, G. C. Is the incidence of congenital toxoplasmosis declining? / G. C. Milne, J. P. Webster, M. Walker // Trends Parasitol. 2023. Vol. 39, № 1. P. 26–37. doi: 10.1016/j.pt.2022.10.003.
- 19. Melo, M. S. Temporal trend, spatial analysis and spatiotemporal clusters of infant mortality associated with congenital toxoplasmosis in Brazil: Time series from 2000 to 2020 / M. S. Melo, L. A. A. Cabrera, S. V. M. A. Lima [et al.] // Trop Med Int Health. 2023. Vol. 28, № 6. P. 476–485. doi: 10.1111/tmi.13877.
- 20. Смердова, М. А. Гуморальный и клеточный иммунитет к антигенам вирусов кори и краснухи у здоровых людей / М. А. Смердова, А. П. Топтыгина, Ю. Ю. Андреев [и др.] // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 3–4. С. 607–611. doi: 10.15789/2220- 7619-2019-3-4-607-611
- 21. Winter, A.K. Rubella / A. K. Winter, W. J. Moss // Lancet. 2022. Vol. 399, № 10332. P. 1336–1346. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02691-X.
- 22. World Health Organization (WHO) [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rubella (дата доступа 04.07.2024).
- 23. CDC Yellow Book 2024. Rubella. / M. Morales, T. Lanzieri, S. Reef. Atlanta, GA: CDC, 2023. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/rubella (дата обращения 18.06.2024).
- 24. Тихомирова, К. К. Корь, краснуха, паротит старая новая проблема / К.
 К. Тихомирова, Ю. Е. Константинова, С. М. Харит // Поликлиника. 2020. № 4.
 С. 39–45. ISSN 2311-2441.
- 25. Seppälä, E. M. Last cases of rubella and congenital rubella syndrome in Spain, 1997–2016: The success of a vaccination program / E. M. Seppälä, N. López-Perea, M.

- V. Torres de Mier [et al.] // Vaccine. 2019. Vol. 37, № 1. P. 169–175. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.11.017.
- 26. Техническое консультативное совещание ВОЗ по эпиднадзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи. Копенгаген, Дания: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2005. 36 с.
- 27. Инфекционные болезни: национальное руководство / ред. Н. Д. Ющук, Ю. Я. Венгеров Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 1104 с. ISBN 978-5-9704-4912-7.
- 28. Revello, M. G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant / M. G. Revello, G. Gerna // Clin. Microbiol. Rev. 2002. Vol. 15, №4. P. 680–715. doi: 10.1128/CMR.15.4.680-715.2002.
- 29. Baloga, O. Modern aspects of intrauterine infection / O. Baloga, O. Korchynska, S. Zhultakova [et al.] // Wiadomosci Lekarskie. 2022. Vol. 75, № 5. P. 1395–1402. DOI 10.36740/wlek202205229.
- 30. Беременность и роды у женщин с инфекционными заболеваниями: учебно-методическое пособие / Е. И. Барановская, А. Н. Воронецкий. Минск: БГМУ, 2024. 35 с. ISBN 978-985-21-1456-1.
- 31. Lazzarotto, T. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection / T. Lazzarotto, B. Guerra, M. Lanari [et al.] // J Clin Virol. 2008. Vol. 41, № 3. P. 192–197. doi: 10.1016/j.jcv.2007.10.015.
- 32. Carlson, A. Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? / A. Carlson, E. R. Norwitz, R. J. Stiller // Rev Obstet Gynecol. 2010. Vol. 3, № 4. P. 172–179.
- 33. Mendel, I. Fulminant hepatitis in neonates with human herpesvirus 6 infection / I. Mendel, M. de Matteis, C. Bertin [et al.] // Pediatr Infect Dis J. − 1995. − Vol. 14, № 11. − P. 993–997. − DOI: 10.1097/00006454-199511000-00013.
- 34. Ashshi, A. M. Detection of human herpes virus 6 DNA in fetal hydrops / A. M. Ashshi, R. J. Cooper, P. E. Klapper [et al.] // The Lancet. 2000. Vol. 355, №. 9214. P. 1519–1520. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02170-X.

- 35. Ramalho, C. Human herpes virus 6 causing myocarditis in a fetus: an infectious cause to a congenital heart defect / C. Ramalho, J. Monterroso, J. Simões [et al.] // J Clin Pathol. 2011. Vol. 64, № 8. P. 733–734. DOI: 10.1136/jcp.2010.087494.
- 36. Kim, F. Human Herpesvirus-6 Meningitis in a Premature Infant with Fevers: A Case and Literature Review / F. Kim, V. Reichman, T. A. Hooven // Clin Med Insights Case Rep. 2020. Vol. 13. P. 1–6. doi: 10.1177/1179547620912952.
- 37. Hall, C. B. Congenital infections with human herpesvirus 6 (HHV6) and human herpesvirus 7 (HHV7) / C. B. Hall, M. T. Caserta, K. C. Schnabel [et al.] // J Pediatr. 2004. Vol. 145, № 4. P. 472–477. doi: 10.1016/j.jpeds.2004.06.017.
- 38. Caserta, M. T. Early developmental outcomes of children with congenital HHV-6 infection / M. T. Caserta, C. B. Hall, R. L. Canfield [et al.] // Pediatrics. 2014. Vol. 134, № 6. P. 1111–1118. doi: 10.1542/peds.2014-0886.
- 39. Rentz, A. C. Human herpesvirus 6 in the newborn intensive care unit / A. C. Rentz, J. Stevenson, W. Hymas [et al.] // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2007. Vol. 26, № 4. P. 297–299. DOI: 10.1007/s10096-007-0282-8.
- 40. Hall, C. B. Chromosomal integration of human herpesvirus 6 is the major mode of congenital human herpesvirus 6 infection / C. B. Hall, M. T. Caserta, K. Schnabel // Pediatrics. 2008. Vol. 122, № 3. P. 513–520. doi: 10.1542/peds.2007-2838.
- 41. Morissette, G. Herpesviruses and chromosomal integration / G. Morissette, L. Flamand // J Virol. −2010. − Vol. 84, № 23. − P. 12100−12109. − doi: 10.1128/JVI.01169-10.
- 42. Nahmias, A. The ToRCH complex-perinatal infections associated with toxoplasma and rubella, cytomegol- and herpes simplex viruses / A. Nahmias, K.Walls, J. Stewart [et al.] // Pediatr Res. 1971.— Vol. 5. P. 405–406. https://doi.org/10.1203/00006450-197108000-00144.
- 43. Домонова, Э. А. Токсоплазмоз // Лабораторная диагностика инфекционных болезней / ред. В. Г. Акимкин, М. Г. Творогова. Москва: ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора, 2020. С. 272–280. doi: https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6. ISBN 978-5-9900432-0-6.

- 44. Frenkel, J. K. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology, and immunology // The Coccidia, Eimeria, Isospora, Toxoplasma, and related genera / ed. D. M. Hammond, P. L. Longed. Baltimore: University Park Press; London: Butterworths, 1973. P. 343–410. ISBN 0-8391-0732-3; 0-408-70462-4.
- 45. Robert-Gangneux, F. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis / F. Robert-Gangneux, M. L. Dardé // Clin Microbiol Rev. 2012. Vol. 25, № 2. P. 264–296. doi: 10.1128/CMR.05013-11. ISSN 0893-8512. eISSN 1098-6618.
- 46. Методические рекомендации №7 «О выявлении и профилактике токсоплазмоза в Москве» (утв. Департаментом здравоохранения г. Москвы 18.02.2013).
- 47. Howe, D. K. Toxoplasma gondii comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease / D. K. Howe, L. D. Sibley // J Infect Dis. 1995. Vol. 172, № 6. P. 1561–1566. doi: 10.1093/infdis/172.6.1561.
- 48. Lindsay, D. S. Toxoplasma gondii: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis / D. S. Lindsay, J. P. Dubey // Parasitology. 2011. Vol. 138, № 14. P. 1829–1831. doi: 10.1017/S0031182011001478.
- 49. Ajzenberg, D. 1995-2015: it is time to celebrate 20 years of (intensive) genotyping of Toxoplasma gondii strains / D. Ajzenberg // Future Microbiol. 2015. Vol. 10, № 5. P. 689–691. doi: 10.2217/fmb.15.23.
- 50. Шкарин, В. В. Особенности эпидемиологии протозоозов при сочетанности с инфекционными болезнями и гельминтозами / В. В. Шкарин, А. С. Благонравова, Н. В. Саперкин // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. $2017. N \le 5. C. 39-49. DOI: 10.24411/2305-3496-2017-00083$
- 51. Smith, N. C. Control of human toxoplasmosis / N. C. Smith, C. Goulart, J. A. Hayward // International Journal for Parasitology. 2021. Vol. 51, № 2–3. P. 95–121. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.11.001. ISSN 0020-7519.
- 52. Beder, D. General Features and Laboratory Diagnosis of Toxoplasma gondii Infection / D. Beder, F. Esenkaya Taşbent // Turkiye Parazitol Derg. 2020. C Vol. 44, № 2. P. 94–101. doi: 10.4274/tpd.galenos.2020.6634.

- 53. Moafa, H. N. The Prevalence of Toxoplasma gondii in Saudi Arabia (1994-2023): A Systematic Review and Meta-Analysis / H. N. Moafa, A. H. Altemani, A. Alaklabi [et al.] // J Epidemiol Glob Health. 2024. doi: 10.1007/s44197-024-00314-5. [Электронный ресурс]. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39388058/ (дата обращения 18.09.2024).
- 54. Kalantari, R. A large-scale study on the seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in humans in Iran / R. Kalantari, M. Esmaeilifallah, R. Jafari [et al.] // Folia Parasitol (Praha). 2023– Vol. 70. P. 2023.004. doi: 10.14411/fp.2023.004. eISSN 1803-6465.
- 55. Адаменко, Л. С. Распространенность антител к Toxoplasma gondii среди домашних кошек в г. Новосибирске, Россия / Л. С. Адаменко, А. Ю. Алексеев, А. В. Зайковская, А. М. Шестопалов // Вестник науки и образования. 2018. № 18(54), часть 2. С. 13–18. DOI: 10.20861/2312-8089-2018-54-001.
- 56. Степанова, Е. В. Модуляция поведения человека под воздействием Тохорlasma gondii: дис. ... канд. мед. наук: 03.02.11 / Степанова Екатерина Викторовна, науч. рук. В. П. Сергиев; МПФ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава РФ. Москва, 2019. 112 с.
- 57. Jones, J. L. Toxoplasma gondii Infection in the United States: Seroprevalence and risk factors get access arrow / J. L. Jones, D. Kruszon-Moran, M. Wilson [et al.] // American Journal of Epidemiology. − 2001. − Vol. 154, № 4. − P. 357–365. − https://doi.org/10.1093/aje/154.4.357
- 58. Rosado, D. Associations between Toxoplasma gondii seropositivity and psychopathological manifestations in schizophrenic patients: A single-center study from Ecuador / D. Rosado, B. Intriago, E. Loor [et al.] // PLoS One. 2024. Vol. 19, № 2. P. e0297523. doi: 10.1371/journal.pone.0297523.
- 59. Laguardia, M. C. Evaluation of different cut-off points for IgG avidity and IgM in the diagnosis of acute toxoplasmosis in pregnant women participating in a congenital toxoplasmosis screening program / M. C. Laguardia, E. V. M Carellos, G. M. Q. Andrade [et al.] // Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2024. Vol. 66. P. e43. doi: 10.1590/S1678-9946202466043.

- 60. Диагностика и профилактика токсоплазмоза у пациентов с ВИЧ-инфекцией. методические рекомендации для врачей-инфекционистов, паразитологов, эпидемиологов и специалистов клинической лабораторной диагностики / Е. В. Аббазова, Д. Б. Гончаров, Е. С. Иевлева. Москва: ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи», 2014.
- 61. Перегудова, А. Б. Структура поражения центральной нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией специализированного отделения инфекционной больницы / А. Б. Перегудова, В. И. Шахгильдян, О. О. Цветкова [и др.] // Терапевтический архив. 2010. Т. 82, № 11. С. 22–27. ISSN 0040-3660. eISSN 2309-5342.
- 62. Derouin, F. ESCMID Study Group on Clinical Parasitology. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients / F. Derouin, H. Pelloux //Clin Microbiol Infect. 2008. Vol. 14, № 12. P. 1089–1101. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02091.x. PMID: 19018809.
- 63. Фризе, К. Х. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных / К. Х. Фризе, В. Кахель; пер. с нем. А. В. Розанова. Москва: Медицина, 2003. 422 с. ISBN 5-225-03617-1.
- 64. Picone, O. Toxoplasmosis screening during pregnancy in France: Opinion of an expert panel for the CNGOF / O. Picone, F. Fuchs, G. Benoist [et al.] // Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction. − 2020. − Vol. 49, № 7. − P. 101814. − https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101814. − ISSN 2468-7847.
- 65. Ekimova, E. V. Некоторые инфекции TORCH-комплекса (обзор литературы) / E. V. Ekimova, S. M. Mullabaeva, M. L. Alekseeva [et al.] // Russian Journal of Human Reproduction. 2007. Vol. 13, №. 4. P. 12–20. ISSN 1025-7217. eISSN 2309-4885.
- 66. Sawers, L. Prevention of congenital toxoplasmosis in France using prenatal screening: a decision-analytic economic model / L. Sawers, M. Wallon, L. Mandelbrot [et al.] // PLoS One. 2022. Vol. 17, № 11. P. e0273781. doi: 10.1371/journal.pone.0273781.

- 67. Zhou, Y. Novel paradigm enables accurate monthly gestational screening to prevent congenital toxoplasmosis and more / Y. Zhou, K. Leahy, A. Grose [et al.]. PLoS Negl Trop Dis. 2024. Vol. 18, № 5. P. e0011335. doi: 10.1371/journal.pntd.0011335.
- 68. Сафонова, А. П. Использование молекулярно-биологических методов при этиологической диагностике оппортунистических инфекций центральной нервной системы у пациентов с ВИЧ-инфекцией / А. П. Сафонова, Э. А. Домонова, Т. С. Скачкова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012. № 3. С. 21—25. ISSN 2226-6976. eISSN 2414-9640.
- 69. Губарева, Е. В. Использование иммунологических и молекулярно-биологических методов для диагностики церебрального токсоплазмоза при ВИЧ-инфекции / Е. В. Губарева, Д. Б. Гончаров, Э. А. Домонова [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2013. № 1. С. 7—12. ISSN 0025-8326. eISSN 2713-1777.
- 70. Dard, C. Relevance of and New Developments in Serology for Toxoplasmosis / C. Dard, H. Fricker-Hidalgo, M. P. Brenier-Pinchart [et al.] // Trends Parasitol. 2016. Vol. 32, № 6. P. 492–506. doi: 10.1016/j.pt.2016.04.001.
- 71. Васильев, В. В. Проблема токсоплазмоза в амбулаторной практике. Часть II. Токсоплазмоз у иммунокомпетентных пациентов / В. В. Васильев, Н. И. Кузнецов, Г. Ю. Старцева // Российский семейный врач. 2023. Т. 27, № 2. С. 5—10. DOI: https://doi.org/10.17816/RFD430384.
- 72. M36-A Clinical use and interpretation of serologic tests for Toxoplasma gondii; Approved Guideline / L. S. Garcia, T. R. Fritsche, K. K. Grady [et al.] // Clinical and Laboratory Standards Institute. − 2004. − Vol. 24, № 6. − ISBN 1-56238-523-2. − ISSN 0273-3099.
- 73. Colombo, F. A. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples / F. A. Colombo, J. E. Vidal, A. C. Penalva de Oliveira [et al.] // J Clin Microbiol. 2005. Vol. 43, № 10. P. 5044–5047. doi: 10.1128/JCM.43.10.5044-5047.2005.

- 74. Васильев, В. В. Проблема токсоплазмоза в амбулаторной практике. Часть III. Токсоплазмоз у беременных и врожденный токсоплазмоз / В. В. Васильев, Н. В. Рогозина, Р. А. Иванова // Российский семейный врач. 2023. Т. 27, № 3. С. 5—11. DOI: https://doi.org/10.17816/RFD568292.
- 75. Wilson R. D. Acute perinatal infection and the evidenced-based risk of intrauterine diagnostic testing: a structured review / R. D. Wilson // Fetal Diagn Ther. 2020. Vol. 47, № 9. P. 653–664. doi: 10.1159/000508042.
- 76. Robert, M. G. Molecular diagnosis of toxoplasmosis: recent advances and a look to the future / M. G. Robert, M. P. Brenier-Pinchart, C. Garnaud [et al.] // Expert Rev Anti Infect Ther. 2021. Vol. 19, № 12. P. 1529–1542. doi: 10.1080/14787210.2021.1941867.
- 77. Rashno, M. M. Seromolecular assess of Toxoplasma gondii infection in pregnant women and neonatal umbilical cord blood / M. M. Rashno, S. Fallahi, Z. Arab-Mazar, H. Dana // EXCLI J. 2019. Vol. 18. P. 1–7.
- 78. Шахгильдян, В. И. Значение молекулярно-биологических методов в диагностике вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией / В. И. Шахгильдян, О. Ю. Шипулина, Э. А. Домонова [и др.] // Молекулярная диагностика: Сборник трудов / ред. В. И. Покровский. Москва: ООО «Издательство МБА», 2014. Том 1. С. 80—81. ISBN 978-5-906325-80-8.
- 79. Домонова, Э. А. Лабораторная диагностика церебрального токсоплазмоза у пациентов с ВИЧ-инфекцией / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина // Молекулярная диагностика: Сборник трудов / ред. В. И. Покровский. Москва: ООО «Издательство МБА», 2014. Том 1. С. 77–78. ISBN 978-5-906325-80-8.
- 80. Домонова, Э. А. Краснуха / Э. А. Домонова, О. Ю. Шипулина // Лабораторная диагностика инфекционных болезней / ред. В. Г. Акимкин, М. Г. Творогова. Москва: ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора, 2020. С. 280–286. DOI: https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6. ISBN 978-5-9900432-0-6.
- 81. Plotkin, S.A. Rubella eradication: not yet accomplished, but entirely feasible // J. Infect. Dis. 2021. Vol. 224. P. S360–S366. doi: 10.1093/infdis/jiaa530.

- 82. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Электронный ресурс].

 URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202305115&taxon_name=Rubivi rus%20rubellae (дата обращения 01.12.2023).
- 83. Gregg, N. M. Congenital cataract following German measles in the mother / N. M. Gregg // Trans Ophthal Soc Aust. 1941. Vol. 3. P. 35–41.
- 84. Leung, A. K. C.Rubella (German measles) revisited / A. K. C. Leung, K. L. Hon, K. F. Leong // Hong Kong Med J. 2019. Vol. 25, № 2. P. 134–141. doi: 10.12809/hkmj187785.
- 85. Das, P. K. Molecular and structural insights into the life cycle of Rubella virus / P. K. Das, M. Kielian // J Virol. 2021. Vol. 95, № 10. P. e02349–20. doi: 10.1128/JVI.02349-20.
- 86. Rubella virus nomenclature update: 2013 // Wkly Epidemiol Rec. 2013. Vol. 88, № 32. P. 337–348.
- 87. Abernathy, E. Status of global virologic surveillance for Rubella viruses / E. Abernathy, J. Hübschen, C. Muller [et al.] // J. Infect. Dis. 2011. Vol. 204, № S1. P. S524–S532. doi: 10.1093/infdis/jir099. PMID: 21666209.
- 88. Чехляева, Т. С. Оценка статуса элиминации краснухи в Российской Федерации в 2019 г. / Т. С. Чехляева, О. В. Цвиркун, Н. В. Тураева [и др.] // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 85–94. doi: 10.15789/2220-7619-ATR-1663.
- 89. Brown, K. E. Genetic characterization of measles and rubella viruses detected through Global Measles and Rubella Elimination Surveillance, 2016–2018. / K. E. Brown, P. A. Rota, J. L. Goodson [et al.] // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2019. Vol. 68, № 26. P. 587–591. doi: 10.15585/mmwr.mm6826a3.
- 90. World Health Organization (WHO). RubeNS [Электронный ресурс]. URL: www.who-rubella.org (дата обращения 14.05.2024).
- 91. Best, J. M. Rubella virus stains show no major antigenic differences / J. M. Best, A. Tomson, J. Nores [et al.] // Intervirology. 1992. Vol. 34. P. 164–168. doi: 10.1159/000150277.

- 92. МУ 3.1.2.2356–08 Методические указания: «Эпидемиологический надзор за врожденной краснухой»: [Утв. Главным санитарным врачом РФ 25 апреля 2008 года]. Москва, 2008. 29 с.
- 93. ВОЗ. Руководство по лабораторной диагностике кори и краснухи. Вторая редакция. Женева, 2007. 115 с.
- 94. Banatvala, J. Clinical features: post-natally acquired rubella / J. Banatvala // Perspectives in medical virology. 2007. Vol. 15. P. 19–37. doi: 10.1016/S0168-7069(06)15002-8. ISSN 0168-7069. ISBN 9780444506344.
- 95. World Health Organization (WHO). Manual for the laboratory-based surveillance of measles, rubella, and congenital rubella syndrome, 3rd edition. Geneva, 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/manual/e n (дата обращения 14.05.2023).
- 96. Miller, E. Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy / E. Miller, J. E. Cradock-Watson, T. M. Pollock // Lancet. 1982. Vol. 2, № 8302. P. 781–784. doi: 10.1016/s0140-6736(82)92677-0.
- 97. Banatvala, J. E. Rubella / J. E. Banatvala, D. W. G. Brown // Lancet. 2004. Vol. 363. P. 1127–1137. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15897-2.
- 98. United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Rubella in the U.S. Atlanta, GA: CDC, 2023. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/rubella/about/in-the-us.html/serology-testing.html (дата обращения 20.09.2023).
- 99. Юминова, Н. В. Вакцинопрофилактика кори, эпидемического паротита и краснухи: задачи, проблемы и реалии / Н. В. Юминова, Е. О. Контарова, Н. В. Балаев // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. № 4. С. 40—44. ISSN 2073-3046. eISSN 2619-0494.
- 100. Руководство по эпидемиологическому надзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи в Европейском регионе ВОЗ: Обновленное издание, 2012 г. 2012. 82 с.

- 101. СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы «Санитарноэпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденные Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. №4. [Электронный ресурс]. – URL: (дата доступа 09.01.2023).
- 102. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases // 13th Edition «The Pink Book» / Ed. by J. Hamborsky, A. Kroger, C. Wolfe. Atlanta, 2015. P. 325–340.
- 103. O'Connor, P. Progress toward rubella elimination World Health Organization European Region, 2005–2019 / P. O'Connor, D. Jankovic, L. Zimmerman [et al.] // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021. Vol. 70, № 23. P. 833–839. doi: 10.15585/mmwr.mm7023a1.
- 104. Zimmerman, L. A. Progress toward rubella and congenital rubella syndrome control and elimination Worldwide, 2012–2020 / L. A. Zimmerman, J. K. Knapp, S. Antoni [et al.] // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2022. Vol. 71, № 6. P. 196–201. doi: 10.15585/mmwr.mm7106a2.
- 105. Medu, O. [et al.] Congenital rubella syndrome, a case series. / O. Medu, P. Mahajan, M. Hennink [et al.] // Can Commun Dis Rep. 2024. Vol. 50, №7-8. P. 274-281. doi: 10.14745/ccdr.v50i78a05.
- 106. Herini, E. S. Phylogenetic analysis of congenital rubella virus from Indonesia: a case report / E. S. Herini, A. Triono, K. Iskandar // BMC Pediatr. 2022. Vol. 22, № 1. P. 713. doi: 10.1186/s12887-022-03775-4.
- 107. WHO. Global Measles and Rubella strategic plan 2012–2020. Geneva: WHO, 2011. 44 p.
- 108. Цвиркун, О. В. Краснуха / О. В. Цвиркун, Н. Т. Тихонова, А. Г. Герасимова // Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней [в 2 т.]. Т. 1 / Н. И. Брико, Г. Г. Онищенко, В. И. Покровский. Москва: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2019. С. 517–533. ISBN 978-5-9986-0356-3. ISBN 978-5-9986-0357-0 (т. 1).
- 109. Лобзин, Ю. В. Современные тенденции инфекционной заболеваемости у детей в Российской Федерации / Ю. В. Лобзин, С. В. Рычкова, А. Н. Усков //

- Кубанский научный медицинский вестник. -2020. Т. 27, № 4. С. 119-133. doi: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-119-133.
- 110. World Health Organization (WHO) [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/europe/ru/publications/i/WHO-EURO-2018-3076-42834-59781 (дата доступа 04.07.2024).
- 111. Государственный доклад «О состоянии санитарноэпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015
 году» [Электронный ресурс]. URL:
 https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=6851 (дата доступа 07.08.2022).
- 112. Государственный доклад «О состоянии санитарноэпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году» [Электронный ресурс]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=12053 (дата доступа 17.08.2024).
- 113. Technical consultation on measles, rubella and congenital rubella syndrome surveillance, Copenhagen, Denmark, 12–13 April 2005, Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 2005 [Электронный ресурс]. URL: http://www.euro.who.int/document/E86828.pdf (дата обращения 14.05.2022).
- 114. Кузьмин, В. Н. Вирусные инфекции и беременность / В. Н. Кузьмин, Л. В. Адамян // М.: Дипак, 2005. С. 105–117.
- 115. Kanbayashi, D. Shedding of rubella virus in postsymptomatic individuals; viral RNA load is a potential indicator to estimate candidate patients excreting infectious rubella virus / D. Kanbayashi, T. Kurata, A. Kaida [et al.] J Clin Virol. 2023. Vol. 160. P. 105377. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105377. ISSN 1386-6532.
- 116. United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Serology testing for Rubella [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/rubella/php/laboratories/serology-testing.html (дата обращения 14.05.2022).

- 117. Best, J. M. Interpretation of rubella serology in pregnancy-pitfalls and problems / J. M. Best, S. O'Shea, G. Tipples [et al.] // BMJ. 2002. Vol. 325, № 7356. P. 147–148. doi: 10.1136/bmj.325.7356.147.
- 118. Best, J. M. Laboratory diagnosis of rubella and congenital rubella / J. M. Best, G. Enders // Perspectives in medical virology. Vol. 15. Rubella viruses. / Ed. J. Banatvala, C. Peckham Amsterdam: Elsevier, 2007. P. 39–78.
- 119. United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Detection of Rubella RNA [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/rubella/php/laboratories/rna-detection.html (дата обращения 14.05.2022).
- 120. Домонова, Э. А. Значение серологических и молекулярнобиологических методов диагностики краснухи / Э. А. Домонова, О. В. Дарвина, О. Ю. Шипулина [и др.] // Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 29–33.
- 121. United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory Testing for Rubella. Atlanta, GA: CDC, 2024. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/rubella/php/laboratories/index.html (дата обращения 09.04.2024).
- 122. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Рубрикатор клинических рекомендаций: клинические рекомендации Нормальная беременность [Электронный ресурс]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/288 2 (дата обращения 05.11.2024).
- 123. United States Centers for Disease Control and Prevention. Control and prevention of rubella: evaluation and management of suspected outbreaks, rubella in pregnant women, and surveillance for congenital rubella syndrome // Morbidity and Mortality Weekly Report 2001. Vol. 50. P. 1–23.
- 124. Standardization of the nomenclature for genetic characteristics of wild-type rubella viruses // Wkly Epidemiol Rec. 2005. –Vol. 80, № 14. P. 126–132.
- 125. . Генетический мониторинг циркуляции вирусов кори и краснухи: методические рекомендации. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. 31 с. ISBN 978-5-7508-1678-1

- 126. Шахгильдян, В. И. Цитомегаловирусная инфекция // Инфекционные болезни: национальное руководство / ред. Н. Д. Ющук, Ю. Я. Венгеров. М.: «ГЭОТАР–Медиа», 2009. С. 784–796. ISBN: 978-5-9704-1000-4
- 127. Домонова, Э. А. Цитомегаловирусная инфекция / Э. А. Домонова, О. Ю. Шипулина // Лабораторная диагностика инфекционных болезней / ред. В. Г. Акимкин, М. Г. Творогова. Москва: ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора, 2020. С. 97–103. doi: https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6. ISBN 978-5-9900432-0-6.
- 128. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Электронный ресурс].

 URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202301462&taxon_name=Cytom egalovirus%20humanbeta5 (дата обращения 07.08.2022).
- 129. Современные аспекты герпесвирусной инфекции: эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: методические рекомендации / Н. В. Каражас, Н. А. Малышев, Т. Н. Рыбалкина [и др.]. М: Спецкнига, 2012. 128 с.
- 130. Исаков, В. А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В. А. Исаков, Е. И. Архипова, Д. В. Исаков. СПб: СпецЛит, 2013. 2-е изд., перераб. и доп. 670 с. ISBN 978-5-299-00454-0.
- 131. Sampaio, A. M. Cytomegalovirus infection in liver transplantation // Manifestations of Cytomegalovirus Infection / ed. P. Price, N. Makwana, S. Brunt. IntechOpen, 2013. doi: 10.5772/56128. ISBN 978-953-51-1116-0. eISBN 978-953-51-7156-0
- 132. Sijmons, S. Genomic and functional characteristics of human cytomegalovirus revealed by next-generation sequencing / S. Sijmons, M. V. Ranst, P. Maes // Viruses. 2014. Vol. 6, № 3. P. 1049–1072. doi: 10.3390/v6031049.
- 133. Pass, R. Cytomegalovirus // Fields Virology. 4th Edition / ed. D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin [et al.]. Lippincott Williams & Wilkins, 2001. P. 4051–4100. ISBN 0-7817-1832-5.

- 134. Пермякова, А. В. Оптимизация диагностики цитомегаловирусной инфекции у детей младшего возраста / А. В. Пермякова, Н. С. Поспелова, И. И. Львова // Детские инфекции. 2018. Т. 17, № 3. С. 51–56. doi: 10.22627/2072-8107-2018-17-3-51-56.
- 135. Ross, S. A. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection / S. A. Ross, Z. Novak, S. Pati [et al.] // Infect Disord Drug Targets. 2011. Vol. 11, № 5. P. 466–474. doi: 10.2174/187152611797636703.
- 136. Кулаков, В. И. Плацентарная недостаточность и инфекция / В. И. Кулаков, Н. В. Орджоникидзе, В. Л. Тютюнник // Руководство для врачей. М., 2004. 494 с.
- 137. Jahan, M. Laboratory Diagnosis of CMV Infection: A Review // Bangladesh J Med Microbiol. 2010. Vol. 4, № 2. P. 39–44. doi: https://doi.org/10.3329/bjmm.v4i2.10831.
- 138. Keighley, C. L. Infections in pregnancy / C. L. Keighley, H. J. Skrzypek, A. Wilson [et al.] // Med J Aust. 2019. Vol. 211, № 3. P. 134–41. https://doi.org/10.5694/mja2.5026.
- 139. Шахгильдян, В. И. Цитомегаловирусная инфекция // ВИЧ-инфекция и СПИД. Национальное руководство. Краткое издание / ред. В. В. Покровский. М.: ГЭОТАР–Медиа, 2014. С. 166–178. ISBN 978-5-9704-2891-7.
- 140. Шипулина, О. Ю. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов / О. Ю. Шипулина, В. И. Шахгильдян, Г. А. Шипулин [и др.] // Вопросы вирусологии. − 1998. Т. 43, №2. С. 91–95. ISSN 0507-4088. eISSN 2411-2097.
- 141. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Электронный ресурс].

 URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202301475&taxon_name=Roseol ovirus%20humanbeta6a (дата доступа 07.08.2022).
- 142. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Электронный ресурс]. URL:

- https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?Taxnode_id=202301476&taxon_name=Roseo lovirus%20humanbeta6b (дата доступа 07.08.2022).
- 143. Симонова, Е. В. Лимбический энцефалит герпесвирусной этиологии /
 Е. В. Симонова, Ф. С. Харламова, В. Ф. Учайкин [и др.] // Детские инфекции. –
 2014. –Т. 13. № 4. С. 6-13. https://doi.org/10.22627/2072-8107-2014-13-4-6-13.
- 144. Salahuddin, S. Z. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders / S. Z. Salahuddin, D. V. Ablashi, P. D. Markham [et al.] // Science. 1986. Vol. 234, № 4776. P. 596–601. doi: 10.1126/science.2876520.
- 145. Ablashi, D. V. HBLV (or HHV-6) in human cell lines / D. V. Ablashi, S. Z. Salahuddin, S. F. Josephs [et al.] // Nature. 1987. Vol. 329, № 6136. P. 207. doi: 10.1038/329207a0.
- 146. Josephs, S. F. Molecular studies of HHV-6 / S. F. Josephs, D. V. Ablashi, S. Z. Salahuddin [et al.] // J Virol Methods. 1988. Vol. 21, №1–4. P. 179–190. doi: 10.1016/0166-0934(88)90064-x.
- 147. Wyatt, L. S. Variations in the replication and antigenic properties of human herpesvirus 6 strains / L. S. Wyatt, N. Balachandran, N. Frenkel // J Infect Dis. 1990. Vol. 162, № 4. P. 852–857. doi: 10.1093/infdis/162.4.852.
- 148. Ablashi, D. V. Genomic polymorphism, growth properties, and immunologic variations in human herpesvirus-6 isolates / D. V. Ablashi, N. Balachandran, S. F. Josephs [et al.] // Virology. $-1991.-Vol.\ 184,\ No.\ 2.-P.\ 545-552.-doi: 10.1016/0042-6822(91)90424-a.$
- 149. Clark, D. J. Activation of CCR2+ human proinflammatory monocytes by human herpesvirus-6B chemokine N-terminal peptide / D. J. Clark, J. Catusse, A. Stacey [et al.] // Virol. 2013. Vol. 94, Pt 7. P. 1624–1635. doi: 10.1099/vir.0.050153-0.
- 150. Agut, H. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7 / H. Agut, P. Bonnafous, A. Gautheret-Dejean // Med Mal Infect. − 2017. − Vol. 47, № 2. − P. 83–91. − doi: 10.1016/j.medmal.2016.09.004.
- 151. Flamand, L. Chromosomal Integration by Human Herpesviruses 6A and 6B / L. Flamand // Adv Exp Med Biol. 2018. Vol. 1045. P. 209–226. doi: 10.1007/978-981-10-7230-7 10.

- 152. Adams, M. J. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2012) / M. J. Adams, E. B. Carstens // Arch Virol. 2012. Vol. 157, № 7. P. 1411–1422. doi: 10.1007/s00705-012-1299-6.
- 153. Dominguez, G. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6 / G. Dominguez, T. R. Dambaugh, F. R. Stamey [et al.] // J Virol. 1999. Vol. 73, № 10. P. 8040–8052. doi: 10.1128/JVI.73.10.8040-8052.1999.
- 154. Agut, H. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections / H. Agut, P. Bonnafous, A. Gautheret-Dejean // Clin Microbiol Rev. 2015. Vol. 28, № 2. P. 313–335. doi: 10.1128/CMR.00122-14.
- 155. Collin, V. L'importance des télomères dans les infections par les Herpèsvirus humains-6A/B [The importance of telomeres in human herpesvirus-6A/B infections] / V. Collin, L. Flamand // Med Sci (Paris). 2022. Vol. 38, № 2. P. 168–176. doi: 10.1051/medsci/2022008.
- 156. Домонова, Э. А. Вирус герпеса человека 6 типа / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Москва: Рипол Классик, 2018. С. 529–536. ISBN 978-5-386-12296-6.
- 157. De Bolle, L. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy / L. De Bolle, L. Naesens, E. De Clercq // Clin Microbiol Rev. -2005. Vol. 18, N_{\odot} 1. P. 217–245. doi: 10.1128/CMR.18.1.217-245.2005.
- 158. Komaroff, A. L. Human Herpesviruses 6A and 6B in Brain Diseases: Association versus Causation / A. L. Komaroff, P. E. Pellett, S. Jacobson // Clin Microbiol Rev. 2020. Vol. 34, № 1. P. e00143-20. doi: 10.1128/CMR.00143-20.
- 159. Riley-Vargas, R. C. CD46: expanding beyond complement regulation / R. C. Riley-Vargas, D. B. Gill, C. Kemper [et al.] // Trends Immunol. 2004. Vol. 25, № 9. P. 496–503. https://doi.org/10.1016/j.it.2004.07.004.
- 160. Liszewski, M. K. Emerging roles and new functions of CD46 / M. K. Liszewski, C. Kemper, J. D. Price, J. P. Atkinson // Springer Semin Immunopathol 2005. Vol. 27, № 3. P. 345–358. https://doi.org/10.1007/s00281-005-0002-3.

- 161. Tang, H. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry / H. Tang, S. Serada, A. Kawabata [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. 2013. Vol. 110, № 22. P. 9096–9099. doi:10.1073/pnas.1305187110 1305187110 [pii].
- 162. Aimola, G. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration / G. Aimola, G. Beythien, A. Aswad, B.B. Kaufer // Antiviral Res. 2020. Vol. 176. P. 104720. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104720.
- 163. Pantry, S. N. Latency, integration, and reactivation of Human Herpesvirus-6 / S. N. Pantry, P. G. Medveczky // Viruses. 2017. Vol. 9, № 7. P. 194. doi: 10.3390/v9070194.
- 164. Wight, D. J. Impact of Host Telomere Length on HHV-6 Integration / D. J. Wight, G. Aimola, G. Beythien, L. Flamand, B. B. Kaufer // Viruses. -2022. Vol. 14, N_{\odot} 9. P. 1864. doi: 10.3390/v14091864.
- 165. Wang, L. R. The impact of human herpesvirus 6B reactivation on early complications following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. / L. R. Wang, L. J. Dong, M. J. Zhang, D. P. Lu // Biol Blood Marrow Transplant. 2006. Vol. 12, № 10. P. 1031–1037. doi: 10.1016/j.bbmt.2006.06.001.
- 166. Chapenko, S. Relationship between beta-herpesviruses reactivation and development of complications after autologous peripheral blood stem cell transplantation / S. Chapenko, I. Trociukas, S. Donina [et al.] // J Med Virol. 2012. Vol. 84, № 12. P.1953–1960. doi: 10.1002/jmv.23412.
- 167. Kampouri, E. Human Herpes Virus-6 (HHV-6) reactivation after hematopoietic cell transplant and chimeric antigen receptor (CAR) − T cell therapy: a shifting landscape / E. Kampouri, G. Handley, J. A. Hill // Viruses. − 2024. − Vol. 16, № 4. − P. 498. − doi: 10.3390/v16040498.
- 168. Cone, R. W. Coinfection with human herpesvirus 6 variants A and B in lung tissue / R. W. Cone, M. L. Huang, R. C. Hackman, L. Corey Coinfection with human herpesvirus 6 variants A and B in lung tissue // J Clin Microbiol. − 1996. − Vol. 34, № 4. − P. 877–881. − doi: 10.1128/jcm.34.4.877-881.1996.

- 169. Lautenschlager, I. Human herpesvirus-6 infections in kidney, liver, lung, and heart transplantation: review / I. Lautenschlager, R. R. Razonable // Transpl Int. 2012. Vol. 25, № 5. P. 493–502. doi: 10.1111/j.1432-2277.2012.01443.x.
- 170. Gravel, A. Sequence analysis of transplacentally acquired human herpesvirus 6 DNA is consistent with transmission of a chromosomally integrated reactivated virus / A. Gravel, C. B. Hall, L. Flamand // J Infect Dis. 2013. Vol. 207, N_{2} 10. P. 1585–1589. doi: 10.1093/infdis/jit060.
- 171. Telford, M. Whole genome diversity of inherited chromosomally integrated HHV-6 derived from healthy individuals of diverse geographic origin / M. Telford, A. Navarro, G. Santpere // Sci. Rep. 2018. Vol. 8, № 1. P. 3472. doi: 10.1038/s41598-018-21645-x.
- 172. Kaufer, B. B. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology / B. B. Kaufer, L. Flamand // Curr. Opin. Virol. 2014. Vol. 9. P. 111–118. doi: 10.1016/j.coviro.2014.09.010.
- 173. Godet, A. N. Presence of HHV-6 genome in spermatozoa in a context of couples with low fertility: what type of infection? / A. N. Godet, G. Soignon, H. Koubi [et al.] // Andrologia. –2015. Vol. 47, № 5. P. 531–535. doi: 10.1111/ and.12299.
- 174. Wood, M. L. Variation in human herpesvirus 6B telomeric integration, excision, and transmission between tissues and individuals / M. L. Wood, C. D. Veal, R. Neumann [et al.] // Elife. 2021. Vol. 10. P. e70452. doi: 10.7554/eLife.70452. PMID: 34545807; PMCID: PMC8492063.
- 175. Мелехина, Е. В. Инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6А/В, у детей (клинико-патогенетические аспекты, диагностика и терапия) / Е. В. Мелехина, А. В. Горелов. Москва: ООО «Издательство «Династия», 2023. 224 с. ISBN 978-5-98125-128-3.
- 176. Miura, H. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in the Japanese population / H. Miura, Y. Kawamura, F. Hattori [et al.] // J Med Virol. 2018. Vol. 90, № 10. P. 1636–1642. doi: 10.1002/jmv.25244.

- 177. Yamanishi, K. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum / K. Yamanishi, T. Okuno, K. Shiraki [et al.] // Lancet. 1988. Vol. 1, № 8594. –P. 1065–1067. doi: 10.1016/s0140-6736(88)91893-4.
- 178. Mohammadpour Touserkani, F. HHV-6 and seizure: A systematic review and meta-analysis / F. Mohammadpour Touserkani, M. Gaínza-Lein, S. Jafarpour [et al.] // J Med Virol. 2017. Vol. 89, № 1. P. 161–169. doi: 10.1002/jmv.24594.
- 179. Akhyani, N. Tissue distribution and variant characterization of human herpesvirus (HHV)-6: increased prevalence of HHV-6A in patients with multiple sclerosis / N. Akhyani, R. Berti, M. B. Brennan [et al.] // J Infect Dis. − 2000. − Vol. 182, № 5. − P. 1321–1325. − doi: 10.1086/315893.
- 180. Kim, J. S. Detection of human herpesvirus 6 variant A in peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients / J. S. Kim, K. S. Lee, J. H. Park [et al.] // Eur Neurol. − 2000. − Vol. 43, №3. − P. 170–173. − doi: 10.1159/000008158.
- 181. Alvarez-Lafuente, R. Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection / R. Alvarez-Lafuente, V. De las Heras, M. Bartolomé [et al.] // Arch Neurol. 2004. Vol. 61, № 10. P. 1523–1527. doi: 10.1001/archneur.61.10.1523. PMID: 15477505.
- 182. Crawford, J. R. Detection of human herpesvirus-6 variants in pediatric brain tumors: association of viral antigen in low grade gliomas / J. R. Crawford, M. R. Santi, H. K. Thorarinsdottir [et al.] // J Clin Virol. − 2009. − Vol. 46, № 1. − P. 37–42. − doi: 10.1016/j.jcv.2009.05.011.
- 183. Caselli, E. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis / E. Caselli, M. C. Zatelli, R. Rizzo [et al.] // PLoS Pathog. 2012. Vol. 8, № 10. P. e1002951. doi: 10.1371/journal.ppat.1002951.
- 184. Potenza, L. HHV-6A in syncytial giant-cell hepatitis / L. Potenza, M. Luppi, P. Barozzi [et al.] // N Engl J Med. 2008. Vol. 359, № 6. P. 593–602. doi: 10.1056/NEJMoa074479.

- 185. Pellett, P. E. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers / P. E. Pellett, D. V. Ablashi, P. F. Ambros [et al.] // Rev Med Virol. 2012. Vol. 22, № 3. P. 144–155. doi: 10.1002/rmv.715.
- 186. Wang, C. Role of TERRA in the regulation of telomere length / C. Wang, L. Zhao, S. Lu // Int J Biol Sci. 2015. Vol. 11, № 3. P. 16–23. doi: 10.7150/ijbs.10528.
- 187. Kreilmeier, T. Telomere Transcripts Target Telomerase in Human Cancer Cells / T. Kreilmeier, D. Mejri, M. Hauck [et al.]. // Genes (Basel). 2016. Vol. 7, № 8. P. 46. doi: 10.3390/genes7080046.
- 188. Butt, H. Z. Telomere length dynamics in vascular disease: a review. / H. Z. Butt, G. Atturu, N. J. London [et al.]. // Eur J Vasc Endovasc Surg. 2010. Vol. 40, № 1. P. 17–26. doi: 10.1016/j.ejvs.2010.04.012.
- 189. Saliques, S. Telomere length and cardiovascular disease / S. Saliques, M. Zeller, J. Lorin [et al.]. // Arch Cardiovasc Dis. 2010. Vol. 103, № 8–9. P. 454–459. doi: 10.1016/j.acvd.2010.08.002.
- 190. Gravel, A. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 as a predisposing risk factor for the development of angina pectoris / A. Gravel, I. Dubuc, G. Morissette [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. − 2015. − Vol. 112, №26. − P. 8058–8063. − doi: 10.1073/pnas.1502741112.
- 191. Das, B. A. Neonate with Acute Heart Failure: Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6-Associated Dilated Cardiomyopathy / B. B. Das // J Pediatr. 2015/ Vol. 167, № 1. P. 188–192.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.03.001.
- 192. Kühl, U. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in heart failure: prevalence and treatment / U. Kühl, D. Lassner, N. Wallaschek // Eur J Heart Fail. −2015. −Vol. 7, № 1. − P. 9–19. − doi: 10.1002/ejhf.194. Epub 2014 Nov 11. PMID: 25388833.
- 193. Gaccioli, F. Fetal inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 predisposes the mother to pre-eclampsia / F. Gaccioli, S. Lager, M. C. de Goffau // Nat Microbiol. 2020. Vol. 5, № 7. P. 901–908. doi: 10.1038/s41564-020-0711-3.
- 194. Endo, A. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated Human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe

- combined immunodeficiency clinical infectious diseases / A. Endo, K. Watanabe, T. Ohye [et al.] // Clin Infect Dis. 2014. Vol. 59, № 4. P. 545–548.
- 195. Das, B. B. Screening for chromosomally integrated human herpesvirus 6 status in solid-organ donors and recipients / B. B. Das, F. M.Munoz // J Heart Lung Transplant. 2017. Vol. 36, № 4. P. 481. DOI: 10.1016/j.healun.2017.01.004.
- 196. Arbuckle, J. H. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro / J. H. Arbuckle, M. M. Medveczky, J. Luka [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107, № 12. P. 5563–5568. doi: 10.1073/pnas.0913586107.
- 197. Тян, Н. С. Клинико-лабораторная характеристика заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.22 / Тян Наталья Сергееевна, науч. рук. И. В. Бабаченко; ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Санкт-Петербург, 2024. 129 с.
- 198. Bates, M. Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa / M. Bates, M. Monze, H. Bima [et al.] // J Med Virol. − 2009. − Vol. 81, № 5. − P. 779–789. − doi: 10.1002/jmv.21455.
- 199. Leibovitch, E. C. Coinfection of human herpesviruses 6A (HHV-6A) and HHV-6B as demonstrated by novel digital droplet PCR assay / E. C. Leibovitch, G. S. Brunetto, B. Caruso [et al.] // PLoS One. − 2014. − Vol. 9, № 3. − P. e92328. − doi: 10.1371/journal.pone.0092328.
- 200. Лысенкова, М.Ю. Клинико-эпидемиологические особенности инфекций, вызванных ВГЧ-6А и ВГЧ-6В / М.Ю. Лысенкова, Н.В. Каражас, Т.Н. Рыбалкина [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. -2018. T. 20, № 3. C. 239–243.
- 201. Никольский, М.А. Молекулярно-биологическая характеристика вируса герпеса человека 6-го типа у пациентов с различными вариантами течения заболевания / М. А. Никольский, А. А. Вязовая, В. Е. Ведерников [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2019. Т. 98, № 1. С. 53–56. DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-1-53-56. ISSN 0031-403X. eISSN 1990-2182.

- 202. Долгих, Т. И. Инфекция, вызываемая вирусом герпеса человека 6-го типа / Т. И. Долгих, Э. А. Домонова, Т. Н. Ермак, О. Ю. Шипулина // Лабораторная диагностика инфекционных болезней: Справочник. Москва: Издательство БИНОМ, 2013. С. 119–122. ISBN 978-5-9518-0537-9.
- 203. Ando, Y. HHV-6 infection during pregnancy and spontaneous abortion / Y. Ando, K. Kakimoto, Y. Ekuni, M. Ichijo // Lancet. 1992. Vol. 340, № 8830. P. 1289. doi: 10.1016/0140-6736(92)92990-w.
- 204. Caserta, M. T. Human herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7 infections in pregnant women / M. T. Caserta, C. B. Hall, K. Schnabel [et al.] // J Infect Dis. 2007. Vol. 196, № 9. P. 1296–1303. doi: 10.1086/522430.
- 205. Flamand, L. Human herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7. Diagnosis and clinical management / L. Flamand, I. Lautenschlager, G. Krueger D. Ablashi. Elsevier: Amsterdam, 2014. 362 p. ISBN (Print) 978-0-444-62703-2.
- 206. Домонова, Э. А. Инфекции, вызываемые вирусом герпеса человека 6А и вирусом герпеса человека 6В // Лабораторная диагностика инфекционных болезней / ред. В. Г. Акимкин, М. Г. Творогова. Москва: ФБУН ЦНИИ Роспотребнадзора, 2020. С. 103–107. DOI: https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-0-6. ISBN 978-5-9900432-0-6.
- 207. Agut, H. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7 / H. Agut, P. Bonnafous, A. Gautheret-Dejean // Microbiol Spectr. − 2016. − Vol. 4, № 3. − P. 1–18. − doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015.
- 208. Патент № 2806427 С1 Российская Федерация, МПК С12Q 1/68, С12Q 1/6876, С12Q 1/6888. Набор олигонуклеотидных праймеров и зондов для видовой дифференциации вируса герпеса человека 6А и вируса герпеса человека 6В и способ его применения: № 2022134976: заявл. 28.12.2022: опубл. 31.10.2023 / Э. А. Домонова, Т. С. Скачкова, О. Ю. Сильвейстрова, В. Г. Акимкин; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

- 209. Патент № 2800731 С1 Российская Федерация, МПК С12Q 1/6806, G01N 33/48, C12N 15/38. Способ количественного определения ДНК вируса герпеса человека 6A (ВГЧ-6А) и ДНК вируса герпеса человека 6B (ВГЧ-6В) и набор олигонуклеотидных праймеров и зонда для его реализации: № 2022134977: заявл. 28.12.2022: опубл. 27.07.2023 / Э. А. Домонова, Т. С. Скачкова, О. Ю. Сильвейстрова, В. Г. Акимкин; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 210. Никольский, М.А. Апробация и доклинические испытания отечественного набора реагентов для видовой дифференциации вирусов герпеса человека 6А и 6В / М. А. Никольский, В. Е. Ведерников, А. А. Вязовая [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. 2023. Т. 68, № 4. С. 224—231. DOI 10.51620/0869-2084-2023-68-4-224-231. ISSN 0869-2084. eISSN: 2412-1320.
- 211. Greninger, A. L. The Brief case: inherited chromosomally integrated Human Herpesvirus 6 (HHV-6) in the age of multiplex HHV-6 testing / A. L. Greninger, S. N. Naccache, P. Pannaraj [et al.] // J Clin Microbiol. 2019. Vol. 57, № 10. P. e02016–e02018. doi: 10.1128/JCM.02016-18.
- 212. Ward, K. N. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles / K. N. Ward, H. N. Leong, E. P. Nacheva [et al.] // J Clin Microbiol. 2006. Vol. 44, № 4. P. 1571–1574. doi: 10.1128/JCM.44.4.1571-1574.2006.
- 213. Hubacek, P. HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis / P. Hubacek, A. Virgili, K. N. Ward [et al.] // Br J Haematol. 2009. Vol. 145, № 3. P. 394–398. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07622.x.
- 214. Gabrielli, L. Inherited chromosomally integrated Human Herpesvirus 6: laboratory and clinical features. / L. Gabrielli, A. Balboni, E. C. Borgatti // Microorganisms. − 2023. − Vol. 11, № 3. − P. 548. − doi: 10.3390/microorganisms11030548.

- 215. Научно-производственная медицинская компания Фарм-Сиб. [Электронный ресурс]. URL: http://www.farmsib.ru/(дата доступа 28.02.2022).
- 216. Московский городской фонд обязательного медицинского страхования. Тарифное соглашение на 2020 г. [Электронный ресурс]. URL: https://www.mgfoms.ru/medicinskieorganizacii/tarifi/2020 (дата доступа 28.02.2022).
- 217. Беляков, В. Д. Избранные лекции по общей эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний / В. Д. Беляков. Москва: «Медицина», 1995. 176 с.
- 218. Черкасский, Б. Л. Руководство по общей эпидемиологии / Б. Л. Черкасский. 2001.-560 с.
- 219. Покровский, В. И. Описательное эпидемиологическое исследование: (ретроспективный эпидемиологический анализ) / В. И. Покровский, Н. Н. Филатов, И. П. Палтышев. Москва: Санэпидмедиа, 2005. 239 с.
- 220. Покровский, В. И. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник / В. И. Покровский, С. Г. Пак. 2 изд., исправленное. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 816 с.
- 221. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», утвержденные Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №3. [Электронный ресурс]. URL: (дата доступа 09.01.2023).
- 222. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 51 с. ISBN 978-5-7508-0889-2.

- 223. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации / Э. А. Домонова, М. Г. Творогова, А. Т. Подколзин [и др.]. Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. 112 с. ISBN 978-5-6045286-6-2. DOI: https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-6-2.
- 224. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Электронный ресурс]. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/(дата доступа 09.07.2020).
- 225. BLAST [Электронный ресурс]. URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi (дата доступа 09.07.2020).
- 226. Kibbe, W. A. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator / W. A. Kibbe // Nucleic Acids Res. 2007. Vol. 35 (Web Server issue). P. W43–46. doi: 10.1093/nar/gkm234.
- 227. Pasloske, B. L. Armored RNA technology for production of ribonuclease–resistant viral RNA controls and standards / B. L. Pasloske, C. R. Walkerpeach, R. D. Obermoeller [et al.] // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36, № 12. P. 3590–3594. doi: 10.1128/JCM.36.12.3590-3594.1998.
- 228. ГОСТ Р 53022.2-2008. Технологии лабораторные клинические требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность): национальный стандарт Российской Федерации: утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ от 18 декабря 2008 г. № 555-ст.
- 229. ГОСТ Р 53079.1-2008. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 1. Правила описания методов исследования: национальный стандарт Российской Федерации: утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ от 18 декабря 2008 г. № 464-ст.
- 230. ГОСТ Р 53022.3-2008. Технологии лабораторные клинические требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов: национальный

- стандарт Российской Федерации: утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ от 18 декабря 2008 г. № 557-ст.
- 231. Корнеенков, А. А. Вычисление и интерпретация показателей информативности диагностических медицинских технологий / А. А. Корнеенков, С. В. Рязанцев, Е. Э. Вяземская // Медицинский Совет. 2019. № 20. С. 45—51. https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-20-45-51.
- 232. Zhang, E. HHV-8-unrelated primary effusion-like lymphoma associated with clonal loss of inherited chromosomally-integrated human herpesvirus 6A from the telomere of chromosome 19q / E. Zhang, V. E. Cotton, A. Hidalgo-Bravo [et al.] // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. P. 22730. doi: 10.1038/srep22730.
- 233. Human betaherpesvirus 6A, variant A DNA, complete virion genome, isolate U1102 [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001664 (дата обращения 18.08.2023).
- 234. Human herpesvirus 6B DNA, complete genome, strain: HST [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB021506 (дата обращения 18.08.2023).
- 235. Экономический анализ инфекционных болезней: методические рекомендации. Москва: МЗ РФ, 1997, № МУ-176-114. 22 с.
- 236. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021667325 Российская Федерация. Анализ и экономический расчет затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций у новорожденных: № 2021666825: заявл. 26.10.2021: опубл. 27.10.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, В. Г. Акимкин [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 237. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622858 Российская Федерация. Анализ экономической значимости лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6А/В у новорожденных в Московском регионе: № 2021622804: заявл. 03.12.2021: опубл. 09.12.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, Е. В.

Мелехина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

- 238. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021660924 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6B в мире: № 2021660161: заявл. 30.06.2021: опубл. 05.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 239. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661481 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6В в Российской Федерации: № 2021660144: заявл. 30.06.2021: опубл. 12.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский науки институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 240. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2020622759 Российская Федерация. База данных «Распространенность наследуемого хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A/В»: № 2020622680: заявл. 16.12.2020: опубл. 22.12.2020 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, К. В. Кулешов, А. П. Чупалов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский науки институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей благополучия (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии И человека Роспотребнадзора).
- 241. Государственный доклад «О состоянии санитарноэпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году» [Электронный ресурс]. – URL:

- https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=27779 (дата доступа 01.07.2024).
- 242. World Health Organization (WHO) [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int (дата доступа 04.07.2024).
- 243. Homan, Wl. Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in Toxoplasma gondii, and its use for diagnostic and quantitative PCR / Wl. Homan, M. Vercammen, J. De Braekeleer, H. Verschueren // Intern J Parasitol. 2000. Vol. 30, № 1. P. 69–75. DOI: 10.1016/s0020-7519(99)00170-8.
- 244. Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) [Электронный ресурс]. URL: https://www.qcmd.org/ (дата доступа 07.08.2022).
- 245. Rowe, W. P. Cytopathogenic agent resembling human salivary glandvirus recovered from tissue cultures of human adenoids / W. P. Rowe, J. W. Hartley, S. Waterman [et al.] // Proc Soc Exp Biol Med. − 1956. − Vol. 92, № 2. − P. 418–424.
- 246. National Institute for Biological Standards and Control Assuring the quality of biological medicines [Электронный ресурс]. URL: https://www.nibsc.ac.uk/ (дата доступа 07.08.2022).
- 247. Tomasec, P. Surface expression of HLA-E, an inhibitor of natural killer cells, enhanced by human cytomegalovirus gpUL40 / P. Tomasec, V. M. Braud, C. Rickards [et al.] // Science. 2000. Vol. 287, № 5455. P. 1031. doi: 10.1126/science.287.5455.1031.
- 248. Dolan, A. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus / A. Dolan, C. Cunningham, R. D. Hector [et al.] // J Gen Virol. 2004. Vol. 85 (Pt 5). P. 1301–1312. doi: 10.1099/vir.0.79888-0.
- 249. Human herpesvirus 5 strain Merlin, complete genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AY446894.2 (дата обращения: 07.08.2020).
- 250. Fryer, J. F. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for nucleic acid amplification (NAT)-based assays / J. F. Fryer, A. B. Heath, R. Anderson [et al.] // WHO ECBS Report 2010. WHO/BS/10.2138. 40 p.

- 251. Adachi, D. Validation of a commercial real-time quantitative PCR assay for detection of CMV viral load in plasma of transplantation recipients and assessment of WHO CMV international panel for in-house CMV assay calibration / D. Adachi, R. Tellier, V. Khurana [et al.]. 29th Clinical Virology Symposium and Annual Meeting Pan American Society for Clinical Virology. 2013, April 26 May 1, Daytona Beach, Florida, USA; 2013. [Электронный ресурс] URL: http://pascv.ivdnews.net (дата обращения: 07.08.2020).
- 252. Kurata, T. Clinical value of enzyme immunoassay detecting rubella-specific immunoglobulin M immediately after the disease onset / T. Kurata, K. Uchino, C. Hotta [et al.] // Microbiol. Immunol. − 2018. − Vol. 63, № 1. − P. 32–35. − https://doi.org/10.1111/1348-0421.12664.
- 253. Домонова, Э. А. Первый случай выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A в Российской Федерации / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, И. А. Гоптарь [и др.] // Инфекционные болезни. 2019. Т. 17, № 3. С. 5-14. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-5-14.
- 254. Human betaherpesvirus 6A strain GLA_15137, partial genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KY316055 (дата обращения 18.08.2024).
- 255. Human betaherpesvirus 6A strain 7A-17p13.3, partial genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KY316048 (дата обращения 18.08.2024).
- 256. Human betaherpesvirus 6A strain MOW-F1M, partial genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MK630134.1 (дата обращения 18.08.2024).
- 257. Human betaherpesvirus 6A strain MOW-F1C, partial genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MK630133.1 (дата обращения 18.08.2024).

- 258. Мелехина, Е. В. Наследуемая хромосомная интеграция Human betaherpesvirus 6В у недоношенных новорожденных / Е. В. Мелехина, С. В. Черкасова, Э. А. Домонова [и др.] // Педиатрия. 2019. Т. 98, № 2. С. 28–34. https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-2-28-34.
- 259. Патент № 2751244 С1 Российская Федерация, МПК С12N 15/10, С12Q 1/68. Способ экстракции нуклеиновых кислот из ногтевых пластин: № 2020132246: заявл. 30.09.2020: опубл. 12.07.2021 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 260. Boom, R. Rapid and simple method for purification of nucleic acids / R. Boom, C. J. Sol, M. M. Salimans [et al.] // J. Clin. Microbiol. 1990. Vol. 28, № 3. P. 495-503. doi: 10.1128/jcm.28.3.495-503.
 - 261. Патент US5234809, дата приоритета 01.07.1991.
 - 262. Патент ЕР1306446, дата приоритета 02.08.2000.
 - 263. Патент RU 2584035, дата приоритета 12.02.2015.
- 264. Справочник биоматериалов для ПЦР-диагностики [Электронный ресурс] // ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. URL: https://prepcr.crie.ru/ (дата обращения 18.08.2023).
- 265. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620002 Российская Федерация. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: № 2021623223: заявл. 22.12.2021: опубл. 10.01.2022 / Э. А. Домонова, М. Г. Творогова, А. Т. Подколзин [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 266. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022661706 Российская Федерация. Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: № 2022661251: заявл. 21.06.2022: опубл. 24.06.2022 / Э. А. Домонова, В. Г. Акимкин, М. Б. Глазов [и др.];

заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научноисследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

- 267. Патент № 2739997 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/58, C12Q 1/686. Способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрируемого вируса герпеса человека 6А/В: № 2020120283: заявл. 18.06.2020: опубл. 30.12.2020 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, О. Ю. Шипулина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).
- 268. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620015 Российская Федерация. Расшифровка случаев внутрисемейной наследственной передачи хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6B: № 2020622767: заявл. 25.12.2020: опубл. 12.01.2021 / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, К. В. Кулешов, А. П. Чупалов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора).
- 269. Домонова, Э.А. Первые данные о распространенности в России хромосомно–интегрированного Human betaherpesvirus 6A/B, передаваемого по наследству / Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, И. А. Гоптарь [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2019. Т. 9, № 4. С. 43–50. DOI: https://dx.doi.org/10.18565/epidem.2019.9.4.43–50.
- 270. Human herpesvirus 6B DNA, complete genome, strain: HST [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB021506 (дата обращения 10.09.2019).
- 271. Human betaherpesvirus 6B strain MOW-F5C, partial genome [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology Information (NCBI) –

- URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN242397.1 (дата обращения 18.08.2024).
- 272. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021660924 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6B в мире: № 2021660161: заявл. 30.06.2021: опубл. 05.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 273. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661481 Российская Федерация. Распространенность наследуемых хромосомно-интегрированных Human betaherpesvirus 6A и Human betaherpesvirus 6В в Российской Федерации: № 2021660144: заявл. 30.06.2021: опубл. 12.07.2021 / Э. А. Домонова, А. П. Чупалов, М. Б. Глазов; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 274. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным цитомегаловирусной инфекцией [Электронный ресурс] // ФГБУ НИИДИ ФМБА России 2015. 33 с. URL: https://dep_pediatr.pnzgu.ru/files/dep_pediatr.pnzgu.ru/cmv_u_detey.pdf (дата обращения 06.07.2021).
- 275. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Электронный ресурс].

 URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202301462&taxon_name=Cytom egalovirus%20humanbeta5 (дата доступа 07.08.2022).
- 276. Шабалов, Н. П. Антибактериальная терапия в период новорожденности / Н. П. Шабалов, А. С. Колбин // Неонатология: учеб, пособие: в 2 т. / ред. Н.П. Шабалов. 6-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. Т. 2. С. 591–638.

- 277. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021622600 Российская Федерация. Анализ и экономический расчет прямых затрат на диагностику и лечение внутриутробных инфекций вирусной этиологии у новорожденных в Московском регионе: № 2021622510: заявл. 16.11.2021: опубл. 23.11.2021 / Э. А. Домонова, Е. М. Воронин, Е. В. Мелехина [и др.]; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
- 278. Беляков, В. Д. Саморегуляция паразитарных систем: (молекулярногенетические механизмы) / В. Д. Беляков, Д. Б. Голубев, Г. Д. Каминский, В. В. Тец. Л.: Медицина, 1987. 240 с.
- 279. Российская Федерация. Законы. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения: Федеральный закон № 52-ФЗ (ред. от 08.08.2024) от 30.03.1999 (с изм. и доп., вступ. в силу с 19.08.2024) [Электронный ресурс]. https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_22481/e69d9ba45c3d7c48ce926d b92a9e0658ee9bae91/ (дата доступа 04.07.2024).
- 280. Казарян, С. М. Эпидемиологическая значимость вирусных и сочетанных инфекций, влияющих на репродуктивное здоровье женщин: дис. ... дра мед. наук: 14.02.02 / Казарян Серине Мишиковна, науч. конс. Е. Г. Симонова; ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Москва, 2019. 251 с.
- 281. Мокова, Н. М. Эпидемиологическая, социальная и экономическая значимость синдрома врожденной краснухи в Российской Федерации: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.30 / Мокова Наталия Михайловна, науч. рук. И. В. Фельдблюм; Работа выполнена в ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е. А. Вагнера Росздрава. Пермь, 2009. 184 с.
- 282. Шахгильдян, В. И. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: актуальные вопросы, возможные ответы / В. И. Шахгильдян // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 8, № 4 (30). С. 61–72. DOI: 10.33029/2308-2402-2020-8-4-61-72.

- 283. Kraft, C. S. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective / C. S. Kraft, W. S. Armstrong, A. M. Caliendo // Clin Infect Dis. 2012. Vol. 54, № 12. P. 1793–1797. doi: 10.1093/cid/cis212.
- 284. Rychert, J. Multicenter comparison of laboratory performance in cytomegalovirus and Epstein-Barr virus viral load testing using international standards / J. Rychert, L. Danziger-Isakov, B. Yen-Lieberman [et al.] // Clin Transplant. 2014. Vol. 28, № 12. P. 1416–1423. doi: 10.1111/ctr.12473.
- 285. Baylis, S. A. Standardization of nucleic acid tests: the approach of the World Health Organization / S. A. Baylis, P. Wallace, E. McCulloch [et al.] // J Clin Microbiol. 2019. Vol. 57, № 1. P. e01056-18. doi: 10.1128/JCM.01056-18.
- 286. Мелехина, Е. В. Инфекция, вызванная Human betaherpesvirus 6A/B, у детей: клинико-патогенетические аспекты, диагностика и терапия: дис. ... д–ра мед. наук: 14.01.09 / Мелехина Елена Валериевна, науч. конс. А. В. Горелов; ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Москва, 2019. 381 с.
- 287. Попкова, М. И. Методические подходы к дифференциальной детекции ВЭБ-1/ВЭБ-2 и ВГЧ-6А/ВГЧ-6В в слюне / М. И. Попкова, О. В. Уткин, Д. А. Брызгалова // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 461–474. doi: 10.15789/2220-7619-MAT-1807.
- 288. Uchino, K. Comparison of virological and serological methods for laboratory confirmation of rubella / K. Uchino, T. Miyoshi, Y. Mori [et al.] // J Clin Virol. 2020. Vol. 123. P. 104257. doi: 10.1016/j.jcv.2019.104257.
- 289. Moncada, P. A. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment / P. A. Moncada, J. G. Montoya // Expert Rev Anti Infect Ther. 2012. Vol. 10, № 7. P. 815–828. doi: 10.1586/eri.12.58.
- 290. de Oliveira Azevedo, C. T. Performance of polymerase chain reaction analysis of the amniotic fluid of pregnant women for diagnosis of congenital toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis / C. T. de Oliveira Azevedo, P. E. do Brasil, L. Guida [et al.] // PLoS One. − 2016. − Vol. 11, № 4. − P. e0149938. − doi: 10.1371/journal.pone.0149938.

- 291. Рогозина, Н. В. Врожденная и приобретенная цитомегаловирусная инфекция у детей первого года жизни / Н. В. Рогозина, В. В. Васильев, И. В. Маркин, Р.А. Иванова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2024 Т. 103, № 1. С. 105—113. DOI 10.24110/0031-403X-2024-103-1-105-113.
- 292. Diogo, M. C. The MRI spectrum of congenital cytomegalovirus infection / M. C. Diogo, S. Glatter, J. Binder [et al.] // Prenat Diagn. 2020 Vol. 40, № 1. P. 110–124. doi:10.1002/pd.5591.
- 293. Vos, B. cytomegalovirus-a risk factor for childhood hearing loss: a systematic review / B. Vos, D. Noll, J. Whittingham [et al.] // Ear Hear. -2021 Vol. 42, $N_2 6. P. 1447 1461. doi:10.1097/AUD.0000000000001055$.
- 294. Cordray, H. Congenital cytomegalovirus infection and hearing outcomes in twins: a systematic review of reported cases / H. Cordray, O. Liu-Lam, C. S. Tey, K. Alfonso K. // Otol Neurotol. − 2023 − Vol. 44, № 2. − P. e53-e62. − doi: 10.1097/MAO.0000000000003776.
- 295. Izquierdo, L. Investigation of inherited chromosomally integrated Human Herpesvirus-6A+ and -6B+ in a patient with ulipristal acetate-induced fulminant hepatic failure / L. Izquierdo, C. M. Canivet, E. De Martin [et al.] // Viruses. -2021. Vol. 14, $Nolemath{\underline{0}} 1. P. 62. doi: 10.3390/v14010062.$
- 296. Ljungman, P. European Conference on Infections in Leukemia. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT / P. Ljungman, R. de la Camara, C. Cordonnier [et al.] // Bone Marrow Transplant. − 2008. − Vol. 42, № 4. − P.227–240. − doi: 10.1038/bmt.2008.162.
- 297. Солдатова, Т. А. Актуальные проблемы диагностики активной инфекции, ассоциированной с вирусом герпеса человека 6, у пациентов гематологического профиля с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса / Т. А. Солдатова, Д. С. Тихомиров, А. Ю. Крылова [и др.] // Гематология и трансфузиология. 2023. Т. 68, № S2. С. 54–55.
- 298. Leong, H. N. The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors / H. N. Leong, P. W. Tuke, R. S.

- Tedder [et al.] // J Med Virol. 2007. Vol. 79, № 1. P. 45–51. doi: 10.1002/jmv.20760.
- 299. Hubacek, P. Prevalence of chromosomally integrated HHV-6 in patients with malignant disease and healthy donors in the Czech Republic / P. Hubacek, A. Hrdlickova, M. Spacek [et al.] // Folia Microbiol (Praha). 2013. Vol. 58, № 1. P. 87–90. doi: 10.1007/s12223-012-0180-z.
- 300. Hill, J. A. Efficient identification of inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 using specimen pooling / J. A. Hill, R. HallSedlak, A. Magaret [et al.] // J Clin Virol. 2016. Vol. 77. P. 71–76. doi: 10.1016/j.jcv.2016.02.016.
- 301. Zhang, E. Inherited chromosomally integrated Human herpesvirus 6 genomes are ancient, intact, and potentially able to reactivate from telomeres / E. Zhang, A. J. Bell., G. S. Wilkie [et al.] // J. Virol. 2017. Vol. 91, № 22. P. 1137–17. DOI: 10.1128/JVI.01137-17.
- 302. Aswad, A. Evolutionary history of endogenous Human Herpesvirus 6 reflects human migration out of Africa / A. Aswad, G. Aimola, D. Wight [et al.] // Mol Biol Evol. 2021. Vol. 38, № 1. P. 96–107. doi: 10.1093/molbev/msaa190.
- 303. Virus Genome Aggregator of Russia (VGARus) [Электронный ресурс]. URL: https://genome.crie.ru/ (дата обращения: 29.07.2023).

Приложение А

(справочное)

Перечень ДНК/РНК микро- и макроорганизмов, использованных при разработке методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей инфекций ToRCH-группы на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

Таблица А.1 — Перечень ДНК/РНК микроорганизмов, использованных при разработке методик качественного определения ДНК *Toxoplasma gondii*, РНК *Rubivirus rubellae*, качественного и количественного определения ДНК *Roseolovirus humanbeta6a* и *Roseolovirus humanbeta6b* на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ

Название организма	Штамм /	Аналитическая	Источник получения
	изолят	характеристика	
		лиофилизированный	1-ый международный
Cytomegalovirus	штамм	образец,	стандарт BO3, NIBSC
humanbeta5	Merlin	концентрация	№09/162, версия 3.0 (30.11.10),
		5х10 ⁶ МЕ ДНК/мл	Великобритания
		лиофилизированный	2-ой международный стандарт
Erythroparvovirus	клинический	образец,	BO3, NIBSC №99/802, версия
primatel	ИЗОЛЯТ	концентрация	1.0 (04.02.09), Великобритания
		5х10 ⁵ МЕ ДНК/мл	1.0 (04.02.09), Великооритания
			коллекция штаммов и
Erythroparvovirus	клинический	концентрация	изолятов микроорганизмов
primatel	твизолят	1х10 ⁷ копий ДНК/мл	ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
			Роспотребнадзора
			коллекция штаммов и
Hepacivirus	клинический	концентрация	изолятов микроорганизмов
hominis	твиоси	$1 \mathrm{x} 10^7 \mathrm{ME} \mathrm{PHK/m}$ л	ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
			Роспотребнадзора

Название организма	Штамм / изолят	Аналитическая характеристика	Источник получения
Hepatitis B virus	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁷ МЕ ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human mastadenovirus B	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human mastadenovirus C	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human mastadenovirus E	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human papillomavirus тип 11 Alphapapillomavirus 10	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human papillomavirus тип 16 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Название организма	Штамм / изолят	Аналитическая характеристика	Источник получения
Human papillomavirus тип 18 Alphapapillomavirus 7	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human papillomavirus тип 33 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human papillomavirus тип 35 Alphapapillomavirus 9	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Human papillomavirus тип 6 Alphapapillomavirus 10	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Listeria monocitogenes	штамм ATCC [®] 7644TM	концентрация 1х10 ¹⁰ ДНК/мл	American Type Culture Collection, «Thermo Fisher Scientific», CIIIA
Lymphocryptovirus humangamma4	штамм В95-8	лиофилизированный образец, концентрация $5 \times 10^6 \mathrm{ME} \mathrm{JHK/mn}$	1-ый международный стандарт ВОЗ, NIBSC №09/260, версия 4.0 (09.10.2014), Великобритания

Название организма	Штамм / изолят	Аналитическая характеристика	Источник получения
Morbillivirus hominis	штамм Нов 96	концентрация 5х10 ⁵ РНК/мл	ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
Mycobacterium tuberculosis	штамм Erdmann	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Orthorubulavirus parotitidis	штамм Драгун	концентрация 1х10 ⁷ копий РНК/мл	ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
Orthorubulavirus parotitidis	штамм ПетроНов	концентрация 1х10 ⁷ копий РНК/мл	ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
Proteus vulgaris	штамм OX	концентрация 1х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Roseolovirus humanbeta6a	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Roseolovirus humanbeta6b	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Roseolovirus humanbeta6b	штамм Z-29	лиофилизированный образец, концентрация 7,75 lg ME ДНК/мл	1-ый международный стандарт ВОЗ, NIBSC №15/266, версия 3.0 (23.11.17), Великобритания

Название организма	Штамм / изолят	Аналитическая характеристика	Источник получения
Roseolovirus humanbeta7	клинический изолят	концентрация 2х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Rubivirus rubellae	штамм Орлов	вакцинный коллекционный штамм, ЦПД $_{50}$ не менее $1000/0,5$ мл	лаборатория биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Rubivirus rubellae	штамм Judith	дикий коллекционный штамм, ЦПД ₅₀ не менее 1000/0,5 мл	лаборатория биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Rubivirus rubellae	штамм М-33	вакцинный коллекционный штамм, ЦПД ₅₀ не менее 1000/0,5 мл	лаборатория биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Rubivirus rubellae	штамм Wistar RA 27/3М	живой аттенуированный вакцинный штамм, ЦПД ₅₀ не менее 1000/0,5 мл	«Pasteur Merieux Connaught», Франция
Salmonella typhimurium	штамм TR-1	концентрация 1х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Название организма	Штамм / изолят	Аналитическая характеристика	Источник получения
Shigella flexneri	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Simplexvirus humanalpha1	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Simplexvirus humanalpha2	клинический изолят	концентрация 1х10 ⁵ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
ДНК Staphylococcus aureus	штамм ATCC® 6538РТМ	концентрация 1х10 ⁷ копий ДНК/мл	American Type Culture Collection®, «Thermo Fisher Scientific», CIIIA
ДНК Toxoplasma gondii	штамм RH	живой коллекционный штамм, концентрация 5×10^7 тахизоитов/мл	лаборатория протозойных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
ДНК Varicellovirus humanalpha3	клинический изолят	концентрация 5х10 ⁷ копий ДНК/мл	коллекция штаммов и изолятов микроорганизмов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Таблица А.2 – Перечень образцов ДНК животных, использованных при разработке методики качественного определения ДНК *Toxoplasma gondii* на основе ПЦР-РВ

Название организма	Штаммы /	Аналитическая	Источник получения
	ИТВПОЕН	характеристика	
			лаборатория протозойных
Alces	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Aices	ТВПОЕИ	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Bos taurus taurus	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Dos taurus taurus	тизолят	$0,2\ { m M}{ m \Gamma}/{ m M}{ m J}$	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Canis lupus familiaris	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Canis iupus jamiiiaris	твиоси	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Carrier himone	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Capra hircus	ТВПОЕН	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Earna	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Equus	ТRПОЕИ	$0,2\ { m M}{ m \Gamma}/{ m M}{ m J}$	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Felis silvestris catus	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Tells stivesirts catus	Т RПОЕИ	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
<i>Muridae</i>	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
1v1ui uuc	тилоги	$0,2\ { m M}{ m \Gamma}/{ m M}{ m J}$	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
	1	I	l

Название организма	Штаммы /	Аналитическая	Источник получения
	изоляты	характеристика	
			лаборатория протозойных
Ormental mana anni andra	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Oryctolagus cuniculus	ТВПОЕН	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Ovis aries	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Ovis aries	ТВПОЕН	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Rattus	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Kanus	ТВПОЕН	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России
			лаборатория протозойных
Communication	клинический	концентрация ДНК	инфекций ФГБУ «НИЦЭМ
Sus scrofa domestica	ТВПОЕН	0,2 мг/мл	им. Н.Ф. Гамалеи»
			Минздрава России

Приложение Б

(справочное)

Практическое применение способа экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин [259]

Пример 1. Данный пример демонстрирует возможность использования РНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин, при проведении молекулярно-биологических исследований.

Для проведения лабораторного обследования с помощью молекулярнобиологических методов в отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора направлен пациент (мужчина, 23 года).

Сбор образцов ногтевых пластин производили после тщательного мытья рук обследуемым, включая подногтевые пространства, и обсушивания одноразовыми салфетками. Свободный край ногтевой пластины (n=4) обрезали одноразовыми стерильными ножницами. Предназначенные для анализа образцы биологического материала помещали в одноразовую стерильную пластиковую пробирку объемом 2,0 мл и маркировали.

Перед проведением процедуры экстракции исследуемые биологические образцы разделяли из расчета на одно исследование – 2 образца ногтевых пластин размером, приближенным к 2х10 мм. Экстракцию РНК из образцов ногтевых согласно разработанному способу. Для пластин проводили всех проб, образцов биологического экстрагированных ИЗ материала, определяли концентрацию РНК с использованием флуориметра Qubit® 3 (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. Результаты тестирования представлены в таблице Б.1. Далее пробы РНК хранили при температуре не выше минус 70 °C до проведения тестирования в рамках дальнейшего молекулярнобиологического исследования, избегая повторного оттаивания-замораживания, но не более одного года.

Таблица Б.1 – Количественные характеристики РНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин мужчины (23 года)

Маркировка образца	Вид биологического	Количественная характеристика	
	материала	объем элюата,	концентрация
		МКЛ	РНК, нг/мл
532/1	ногтевые пластины	50,0	454,0
532/2	ногтевые пластины	50,0	420,0

Таким образом, количественные характеристики РНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин согласно разработанному нами способу, удовлетворяют требованиям к образцам, предназначенным для молекулярно-биологических исследований. Образцы РНК подготовлены к дальнейшему использованию.

Пример 2. Данный пример демонстрирует возможность использования ДНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин, при изучении наследственной предрасположенности к различным мультифакторным заболеваниям, например, нарушения свертываемости крови, методом ПЦР-РВ.

Пациентка (женщина, 33 года) в рамках проведения прегравидарной подготовки направлена на лабораторное обследование для исключения наследственной предрасположенности к нарушениям свертываемости крови. Из анамнеза известно: женщина (1987 г.р.) правильного телосложения с ожирением (индекс массы тела 39,9), АД 125/70 мм рт. ст., первая беременность закончилась спонтанным абортом на сроке 8 недель в 2013 г., у родственника первой линии (матери) отмечались нарушения свертываемости крови – тромбозы глубоких вен голеней, группа крови A(II) Rh положительный, kell отрицательный, фенотип C+c+E+e+, жалоб не предъявляла. При обращении за амбулаторной помощью к врачу акушеру-гинекологу пациенткой представлены результаты общего клинического анализа крови (гемоглобин, г/л – 124,00; гематокрит, % – 39,40;

тромбоциты, $10^9/\pi - 264,00$; абсолютное содержание: нейтрофилов, $10^9/\pi - 2,96$; эозинофилов, $10^9/\pi - 0,13$; базофилов, $10^9/\pi - 0,04$; моноцитов, $10^9/\pi - 0,40$; лимфоцитов, $10^9/\pi - 2,24$; скорость оседания эритроцитов, мм/ч - 8,00), исследования коагуляционного гемостаза (МНО - 1,154), общего анализа мочи - без патологии.

Для исключения генетической склонности к развитию тромбозов, проведено ПЦР-исследование ДНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин, включающее качественное определение генотипов по полиморфизмам 20210 G>A (rs1799963) в гене протромбина (F2) и R534Q G>A (rs6025, мутация Лейдена) в гене проакцелерина (F5). Валидность результата анализа оценивалась относительно данных полученных при исследовании ДНК, экстрагированной из образца цельной венозной крови обследуемой, по аналогичным параметрам.

Сбор образцов ногтевых пластин производили после тщательного мытья рук обследуемой, включая подногтевые пространства, и обсушивания одноразовыми салфетками. Свободный край ногтевой пластины (n=2) обрезали одноразовыми Образцы биологического материала стерильными ножницами. размером, приближенным к 2х10 мм, помещали в одноразовую стерильную пластиковую пробирку объемом 2,0 мл. Взятие образцов цельной венозной крови производили натощак одноразовой иглой (диаметр 0,8-1,1 мм) в одноразовую стерильную пробирку объемом 4,0 мл с 6% ЭДТА путем пункции локтевой вены после обработки места пункции кожным антисептиком. Предназначенные для ПЦРисследования образцы биологического материала маркировали. Допускалось хранение образцов ногтевых пластин и цельной венозной крови при температуре 18–25 °C и 2–8 °C, соответственно, в течение 72 ч с момента взятия биологического материала.

Выделение ДНК из образцов ногтевых пластин проводили согласно заявленному способу экстракции, цельной венозной крови — при помощи комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБОпреп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03147 от 06 августа 2021 года). Для всех проб,

экстрагированных из образцов биологического материала, предварительно определяли концентрацию ДНК с использованием флуориметра Qubit[®] 3 (Thermo Fisher Scientific», США) согласно инструкции производителя. Результаты тестирования представлены в таблице Б.2.

Таблица Б.2 – Количественная характеристика ДНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин и цельной венозной крови женщины (33 года)

Вид биологического материала	Количественная характеристика		
вид опологи теского материала	объем элюата, мкл	концентрация ДНК, нг/мл	
Ногтевые пластины	50,0	69,5	
Цельная венозная кровь	50,0	316,3	

Далее пробы ДНК анализировали методом ПЦР-РВ с использованием набора реагентов для диагностики in vitro «АмплиСенс® F2/F5-SNP-FL» (РУ № РЗН 2019/8325 от 25 апреля 2019 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора согласно инструкции производителя. Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года), в соответствии с инструкцией производителя. Результаты лабораторного обследования пациентки представлены в таблице Б.3.

Как следует из таблицы Б.3 у обследуемой женщины детектирован частый («дикий тип») вариант генотипа (генотип GG) для каждого из анализируемых полиморфизмов в генах протромбина (F2) и проакцелерина (F5). Установлено 100% совпадение полученных результатов по сравниваемым видам биологического материала (образцы ногтевых пластин и цельной венозной крови) пациентки при изучении наследственной предрасположенности к нарушению свертываемости крови (развитию тромбозов) методом ПЦР-РВ, аллели риска не выявлены.

Таблица Б.3 — Результаты определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбозов методом ПЦР-РВ

Нуклеиновая	Вид биологического	Аналит	
кислота	материала	20210 G>A (rs1799963)	R534Q G>A (rs6025) B
		в гене F2	гене F5
ДНК	ногтевые пластины	GG	GG
ДНК	цельная венозная кровь	GG	GG

Таким образом, количественные и качественные характеристики ДНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин, позволяют рекомендовать данный вид биологического материала для использования при изучении наследственной предрасположенности пациентов к различным мультифакторным заболеваниям методом ПЦР-РВ.

Пример 3. Данный пример демонстрирует возможность использования ДНК, экстрагированной ИЗ образцов ногтевых пластин, при лабораторном наследуемого хиВГЧ-6а-статуса подтверждении И расшифровке случая наследственной передачи хромосомно-интегрированного R.humanbeta6a у членов одной семьи. Более подробное описание случая внутрисемейной передачи хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a*, передаваемого по наследству, в трех поколениях представлено в главе 6.

При лабораторном обследовании ребенка на фоне клинического здоровья в возрасте 1,5 месяцев выявлены изменения: в гемограмме: анемия (гемоглобин – 85 г/л), относительная нейтропения (12,6%), тромбоцитоз (506 000/мкл); в крови определена ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации 5,14 lg копий/10⁵ клеток (ПЦР-РВ) при отсутствии вирусоспецифических АТ-IgG (ИФА). По данным УЗИ – тимомегалия ІІІ степени. Из анамнеза известно: мальчик (2016 г.р.) от матери (1986 г.р., соматически здорова), от первой беременности, протекавшей: І триместр – ретрохориальная гематома, повышение Д-димера, ІІ триместр – без особенностей,

III триместр – анемия беременных, роды первые самопроизвольные в срок. При рождении вес 3570 г, длина тела 54 см, окружность головы – 36 см, окружность груди – 36 см, оценка по шкале Апгар – 8/9 баллов; неонатальный период – без особенностей. На основании результатов клинико-лабораторного обследования мальчику выставлен диагноз: «Острая инфекция, вызванная вирусом герпеса человека 6?». Рекомендовано провести клинико-лабораторное обследование матери и ребенка. Рассматривался вопрос о назначении пациенту специфической противовирусной терапии. Дальнейшее обследование ребенка, матери включало лабораторное подтверждение или исключение активной ВГЧ-6а/b-инфекции. В результате которого, ДНК ВГЧ-6а/в методом ПЦР-РВ выявлена в концентрации ≥5 lg копий/ 10^5 клеток во всех видах исследованного биологического материала как ребенка, так и его матери (цельная венозная кровь, плазма венозной крови, мазок со слизистой оболочки ротоглотки; моча ребенка) без увеличения полученных количественных значений в динамике. В образцах сыворотки венозной крови вирусоспецифические AT-IgG методом ИФА не обнаружили. Последующее динамическое ИФА-исследование парных сывороток венозной крови матери и мальчика, взятых с интервалом 14 дней, сероконверсию вирусоспецифических AT-IgG не выявило, что указывало на отсутствие данных, свидетельствующих об инфицировании пациентов экзогенным ВГЧ-6а/b. Мать мальчика на момент клинико-лабораторного обследования жалоб не предъявляла, клинических симптомов активной инфекции у нее не выявлено, показатели общего клинического и биохимического анализов крови, общего анализа мочи находились в пределах диапазона референсных значений. Полученные данные лабораторного обследования и отсутствие у пациентов клинических признаков активной инфекции явились основанием для подозрения у них наследуемого хиВГЧ-6а/bстатуса.

Для подтверждения или опровержения данного предположения проведено дополнительное исследование образцов ногтевых пластин матери, ребенка методом ПЦР-РВ. Сбор образцов ногтевых пластин производили после тщательного мытья рук, включая подногтевые пространства, и обсушивания

одноразовыми салфетками. Свободный край ногтевой пластины (n=4) обследуемых обрезали одноразовыми стерильными ножницами, помещали в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объемом 2,0 мл и маркировали. Допускалось хранение образцов ногтевых пластин при температуре 18–25 °C в течение 72 ч с момента взятия биологического материала.

Перед проведением процедуры экстракции исследуемые биологические образцы разделяли из расчета на одно исследование для каждого пациента отдельно — 2 образца ногтевых пластин размером, приближенным к 2х10 мм. Экстракцию ДНК из образцов ногтевых пластин проводили согласно разработанному способу. Концентрацию тотальной ДНК, экстрагированой из образцов ногтевых пластин, определяли с использованием флуориметра Qubit® 3 (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. Результаты исследования представлены в таблице Б.4.

Таблица Б.4 – Количественные характеристики ДНК, экстрагированной из образцов ногтевых пластин мальчика (2 месяца) и его матери (31 год)

Пациент	Вид биологического	Количественная характеристика	
	материала	объем элюата,	концентрация
		МКЛ	ДНК, нг/мл
Ребенок	ногтевые пластины	50,0	42,6
Мать	ногтевые пластины	50,0	78,0

Концентрацию ДНК ВГЧ-6а/b в исследуемых образцах ногтевых пластин определяли методом ПЦР-РВ с учетом результатов анализа в количественном формате при применении набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса герпеса 6 типа (ННV6) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ННV6-скрин-титр-FL» по ТУ 9398-094-01897593-2012 (РУ № ФСР 2010/09506 от 13 марта 2019 года) производства ФБУН ЦНИИ

Эпидемиологии Роспотребнадзора согласно инструкции производителя. Постановку ПЦР-РВ и последующий анализ полученных результатов выполняли с использованием прибора для проведения ПЦР-РВ Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия; РУ № ФСЗ 2010/07595 от 10 августа 2010 года), в соответствии с инструкцией производителя. Расчет концентрации выполняли в логарифмах копий специфической ДНК ВГЧ-6a/b на стандартное количество (10⁵) клеток человека, оцененное по β-глобиновому гену. В результате проведенного исследования хиВГЧ-ба, передаваемый по наследству, верифицирован на основании определения ДНК вируса методом ПЦР-РВ в образцах цельной венозной крови и ногтевых пластин ребенка и матери в концентрации 5,24,5,37 и 5,23,5,63 lg копий ДНК/ 10^5 клеток, соответственно. Видовая идентификация вируса проведена на основании данных, полученных с помощью метода массового параллельного секвенирования. Дополнительно обследовано 4 условно здоровых ближайших родственника пары «мать – ребенок» с наследуемым хиВГЧ-6а-статусом: отец ребенка, родная сестра матери, бабушка по материнской линии, дедушка по материнской линии. На момент клинико-лабораторного обследования пациенты жалоб не предъявляли, клинических симптомов активной инфекции у них не выявлено. Показатели общего и биохимического анализов крови – в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи – без патологии. Дальнейшие молекулярнобиологические исследования, проведенные в формате аналогично описанному выше, позволили выявить и лабораторно подтвердить наследуемый хиВГЧ-6астатус у дедушки по материнской линии. У остальных членов семьи наследуемый хиВГЧ-6а-статус не подтвержден.

Таким образом, количественные и качественные характеристики ДНК, выделенной из образцов ногтевых пластин согласно разработанному нами способу экстракции, позволяют провести лабораторное подтверждение наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса обследуемых. Данный пример демонстрирует случай выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а, передаваемого по наследству, у членов одной семьи в трех поколениях (от отца дочери и внуку) [267]. Лабораторное подтверждение наследуемого хиВГЧ-6а-статуса явилось

обоснованием для исключения активной инфекции, вызванной ВГЧ-6а, и проведения излишней противовирусной терапии.

Приложение В

(справочное)

Практическое применение способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *Roseolovirus humanbeta6a/b* [267]

Клинический пример 1. Пациентка (девочка, 2 года 2 месяца) с выявленным и лабораторно подтвержденным наследуемым хиВГЧ-6b-статусом впоследствии, имеющая значения концентрации ДНК вируса в образцах цельной венозной крови -5,26 lg копий/ 10^5 клеток, ногтевых пластин -5,67 lg копий/ 10^5 клеток, волосяных фолликулов -5,35 lg копий/ 10^5 клеток.

На амбулаторный прием врача-инфекциониста обратились родители с ребенком (2017 г.р.) с жалобами на сохраняющиеся изменения в анализах крови девочки (нейтропения, абсолютное количество нейтрофилов 900 клеток/мкл) после острого респираторного заболевания, перенесенного 5 месяцев назад.

Из анамнеза известно, что пациентка в возрасте 1 года 9 месяцев перенесла ОРВИ, характеризующуюся лихорадкой (максимальное повышение температуры до 39 °C) в течение 5 дней, явлениями бронхита, ринита. При лабораторном обследовании ребенка методом ПЦР выявлена в образцах цельной крови ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации 5,26 lg копий/10⁵ клеток, отделяемого носо- и ротоголотки — ДНК *Н.mastadenovirus В* и ДНК ВГЧ-6а/b в концентрации 4,94х10⁵ копий/мл. Проведена комплексная терапия, включающая интерферон альфа-2b человеческий рекомбинантный ректально курсом в течение 2 месяцев в соответствии с инструкцией по применению. На фоне которой самочувствие девочки нормализовалось, в крови абсолютное количество нейтрофилов 900—1000 кг/мкл. Однако, при повторном лабораторном обследовании пациента, проведенном через 21 день после окончания курса комплексной терапии, в крови ДНК ВГЧ-6а/b сохранялась на высоком уровне (концентрация 5,28 lg копий/10⁵ клеток).

При осмотре: состояние удовлетворительное, девочка правильного телосложения, удовлетворительного питания (рост 94 см, вес 15 кг). Кожные покровы обычной окраски, чистые, сухие по задней поверхности бедер. Язык

чистый. Видимые слизистые чистые, задняя стенка глотки умеренно зерниста, обычной окраски. Миндалины не увеличены, рыхлые, чистые. Лимфоузлы шейных, подмышечных, надключичных, паховых групп не увеличены, единичные, мягкой, плотно-эластичной консистенции, безболезненные. Дыхание через нос свободное, над легкими пуэрильное, хрипов нет. Сердечные тоны — звучные, ритмичные. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень увеличена на 2 см из-под края реберной дуги, селезенка не пальпируется. Стул ежедневный или через день, оформленный, мягкой консистенции. Риноскопия: без особенностей. Отоскопия: без особенностей.

Результаты клинического анализа крови пациентки при обращении за амбулаторной помощью к врачу-инфекционисту представлены в таблице В.1. Результаты общего анализа мочи в тот же период времени – без патологии.

Таблица В.1 – Результаты клинического анализа крови девочки (2 года 2 месяца) при обращении

Аналит, единицы измерения	Значение
Гемоглобин, г/л	139
Эритроциты, $10^{12}/\pi$	4,84
Тромбоциты, $10^9/л$	382
Лейкоциты, $10^9/\pi$	7,6
палочкоядерные, %	2
сегментоядерные, %	11
Нейтрофилы, $10^9/л$	988
эозинофилы, %	2
базофилы, %	0
моноциты, %	10
лимфоциты, %	75
СОЭ, мм/ч	2

На основании данных о длительно сохраняющейся ДНК-емии ВГЧ-6а/b у девочки после купирования клинических проявлений острого заболевания и проведения противовирусной терапии принято решение о необходимости исключения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациентки. Для этого выполнено ее дополнительное лабораторное обследование, результаты которого приведены в таблице В.2. ДНК ВГЧ-6b методом ПЦР-РВ обнаружена в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и волосяных фолликулов девочки в концентрации 5,26; 5,67 и 5,35 lg копий/105 клеток, что позволило подтвердить наследуемый хиВГЧ-6b-статус обследованной. Для расшифровки случая наследственной передачи хиВГЧ-6b проведено обследование пяти условноздоровых ближайших родственников ребенка с наследуемым хиВГЧ-6b-статусом (биологических родителей, бабушки и дедушки по материнской линии, бабушки по отцовской линии). На момент клинико-лабораторного обследования все пациенты жалоб не предъявляли, клинических симптомов активной инфекции у них не выявлено.

Показатели общего и биохимического анализов крови — в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи — без патологии. Наследуемый хиВГЧ-6b верифицирован у отца девочки на основании обнаружения ДНК ВГЧ-6b в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин, волосяных фолликулов методом ПЦР-РВ в концентрациях: 5,29; 5,66; 5,32 lg копий/10⁵ клеток, соответственно. У остальных членов семьи (матери ребенка, бабушки и дедушки по материнской линии, бабушки по отцовской линии) наследуемый хиВГЧ-6a/b-статус не подтвержден. Видовая идентификация вируса (ВГЧ-6b, *R.humanbeta6b*) определена на основании данных, полученных при использовании метода массового параллельного секвенирования.

В сыворотке венозной крови у 4 из 6 пациентов методом ИФА обнаружены AT-IgG к АГ ВГЧ-6а/b (коэффициент позитивности варьировал от 1,97 до 4,75) без увеличения в динамике, косвенно свидетельствующие о перенесенной ВГЧ-6b-инфекции и отсутствии активного процесса на момент обследования.

Таблица В.2 – Результаты выявления и количественного определения специфических маркеров ВГЧ-ба/b-инфекции у членов семьи с наследственной передачей хиВГЧ-6b

Вид биологического материала; аналит,			Пац	Пациент		
единицы измерения; метод исследования	ребенок	MaTb	отец	бабушка по	дедушка по	бабушка по
				материнской	материнской	отцовской
				линии	линии	линии
Сыворотка венозной крови;	0,15	3,25	0,25	1,97	2,08	4,75
вирусоспецифические AT-IgG, коэффициент						
позитивности, ИФА						
Цельная венозная кровь; ДНК	5,26	не	5,29	не	не	не
R.humanbeta6a/b,		обнаружено		обнаружено	обнаружено	обнаружено
\lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ						
Волосяные фолликулы; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	5,35	Не	5,32	не	не	Не
\lg копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		обнаружено		обнаружено	обнаружено	обнаружено
Ногтевые пластины; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , 1g	5,67	Не	2,66	не	не	Не
копий/ 10^5 клеток; ПЦР-РВ		обнаружено		обнаружено	обнаружено	обнаружено

При этом в образцах сыворотки венозной крови девочки (2 года 2 месяца) и ее отца AT-IgG к AГ ВГЧ-6а/b не обнаружены (коэффициент позитивности 0,15 и 0,25, соответственно), что указывало на отсутствие данных, лабораторно подтверждающих инфицирование пациентов экзогенным ВГЧ-6а/b.

Данный пример демонстрирует выявление и подтверждение наследуемого хиВГЧ-6b-статуса у девочки (возраст 2 года 2 месяца), впервые заподозренного на фоне течения ОРВИ, вероятно аденовирусной этиологии, сопровождающейся лихорадочным состоянием. В ходе динамического наблюдения (3 месяца) пациентки зафиксировано ее полное клиническое выздоровление. ХиВГЧ-6b, передаваемый по наследству, обнаружен и подтвержден в двух поколениях: отец — дочь. На момент установления наследуемого хиВГЧ-6b-статуса пациенты в специфической противовирусной терапии не нуждались.

Клинический пример 2. Пациент (мальчик, 2 года 5 месяцев) с лабораторно неподтвержденным наследуемым хиВГЧ6а/b-статусом впоследствии, имеющий значения концентрации ДНК ВГЧ-6b в образцах цельной венозной крови -3,75 lg копий/ 10^5 клеток, ногтевых пластин и волосяных фолликулов — не обнаружено.

Ребенок (2016 г.р.) поступил в инфекционное отделение с жалобами на повышение температуры до 39,7 °C в течение двух дней, насморк, судороги. На вторые сутки лихорадки на фоне 39,5 °C отмечались тонико-клонические судороги на протяжении нескольких минут, купировавшиеся самостоятельно, выраженная мраморность кожи.

При клиническом осмотре: состояние средней тяжести, вялый, аппетит снижен, кожные покровы чистые, бледные; температура 40,6 °C, полилимфадения. Зев гиперемирован, небные миндалины увеличены до 1–2 размера, чистые. Лимфоузлы шейных групп (задне- и передне-шейные), надключичные, подмышечные увеличены до 12 мм, до 2–3 в группе, мягкой, эластичной консистенции, безболезненные при пальпации. Дыхание через нос умеренно затруднено, выделений нет. Над легкими – жесткое, хрипов нет, ЧДД 28 д.д./мин.

Тоны сердца звучные, ритмичные, ЧСС 120 уд./мин. Язык умеренно обложен белым налетом, живот мягкий, безболезненный при пальпации по ходу кишечника. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2 см по среднеключичной линии, край мягкий острый, селезенка не увеличена. Стул один раз в день оформленный, мочеиспускание не нарушено.

Результаты клинического анализа крови мальчика при поступлении представлены в таблице В.3. Общий анализ мочи при поступлении – без патологии.

Таблица В.3 – Результаты клинического анализа крови мальчика (2 года 5 месяцев) при поступлении в инфекционное отделение

Аналит, единицы измерения	Значение
Гемоглобин, г/л	111
Эритроциты, 10^{12} /л	4,23
Тромбоциты, $10^9/л$	313
Лейкоциты, 10^{9} /л	8,2
палочкоядерные, %	7
сегментоядерные, %	59
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	853
эозинофилы, %	2
базофилы, %	0
моноциты, %	7
лимфоциты, %	77
СОЭ, мм/ч	16

При обследовании выявлена ДНК ВГЧ-6b методом ПЦР-PВ в цельной венозной крови в концентрации 3,75 lg копий/ 10^5 клеток (лабораторный маркер активной ВГЧ-6a/b—инфекции) при отсутствии АТ-IgG к АГ ВГЧ-6a/b. Видовая идентификация вируса — ВГЧ-6b (R.humanbeta6b) — определена на основании

данных, полученных при использовании метода массового параллельного секвенирования.

Принято решение о необходимости исключения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса у пациента. Для этого дополнительно исследованы образцы ногтевых пластин и волосяных фолликулов ребенка методом ПЦР-РВ в количественном формате. А также проведено клинико-лабораторное обследование его четырех ближайших родственников: биологических родителей, родных сестры и брата (условно здоровы, жалоб не предъявляли, показатели общего и биохимического анализов крови – в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи – без патологии), включающее выявление ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной крови, ногтевых пластин и волосяных фолликулов методом ПЦР-РВ в количественном формате. Результаты лабораторного обследования представлены в таблице В.4.

На 3-и сутки пребывания в отделении у пациента, после нормализации температуры тела, отмечалось появление на теле обильной пятнисто-папулезной сыпи. На фоне проводимой в отделении комплексной терапии самочувствие ребенка улучшилось, выписан на 7-й день заболевания в удовлетворительном состоянии.

При повторном лабораторном обследовании мальчика (через 21 день после окончания проведенного курса комплексной терапии): ДНК ВГЧ-6а/b (ПЦР-РВ) в образцах цельной крови, ногтевых пластин и волосяных фолликулов не выявлена, в сыворотке крови обнаружены AT-IgG к АГ ВГЧ-6а/b методом ИФА (коэффициент позитивности 4,36).

Данный пример демонстрирует развитие у мальчика в возрасте 2 года 5 месяцев характерной клинической формы первичной инфекции (внезапная экзантема, ринит, фебрильный судорожный приступ), вызванной ВГЧ-6b, подтвержденной лабораторно с применением прямых (выявление ДНК вируса (ПЦР-РВ) в цельной венозной крови) и косвенных (обнаружение сероконверсии AT-IgG к АГ ВГЧ-6а/b (ИФА) при исследовании парных образцов сыворотки венозной крови) методов диагностики.

Таблица В.4 – Результаты выявления и количественного определения специфических маркеров ВГЧ-ба/b-инфекции у членов семьи без наследственной передачи хиВГЧ-6а/b

Вид биологического материала; аналит,			Пациент		
единицы измерения; метод исследования	ребенок	MaTb	отец	сестра	брат
Сыворотка венозной крови;	0,18	7,15	0,31	5,34	6,20
вирусоспецифические AT-IgG, коэффициент					
позитивности, ИФА					
Цельная венозная кровь; ДНК	3,75	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	1,10
R.humanbeta6a/b,					
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ					
Волосяные фолликулы; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> ,	не обнаружено				
lg копий/10 ⁵ клеток; ШЦР-РВ					
Ногтевые пластины; ДНК <i>R.humanbeta6a/b</i> , 1g	не обнаружено				
копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ					

Несмотря на выявление высокой концентрации ДНК вируса (3,75 lg копий/10⁵ клеток) в образцах цельной венозной крови при первичном обследовании наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус не подтвержден, что обосновано отсутствием ДНК вируса в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов, а также снижением ее концентрации в крови до неопределяемого уровня. Учтено, что у ближайших родственников ребенка (4 человека) наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус не выявлен. Своевременное исключение хиВГЧ-6а/b, передаваемого по наследству, у ребенка и верификация у него острой (первичной) ВГЧ-6b-инфекции явились основанием для назначения адекватной противовирусной терапии, приведшей к полному клиническому выздоровлению пациента.

Клинический пример 3. Пациентка (женщина, 27 лет) с лабораторно неподтвержденным наследуемым хиВГЧ6а/b-статусом впоследствии, имеющая значения концентрации ДНК ВГЧ-6b в образцах цельной венозной крови -5,84 lg копий/ 10^5 клеток, ногтевых пластин и волосяных фолликулов — не обнаружено.

Женщина (1990 г.р.) переведена в инфекционное отделение из городской клинической больницы города Москвы с диагнозом «Инфекционный мононуклеоз. Отек Квинке» в связи с сохраняющимися жалобами на высыпания на коже лица, туловища и конечностей, зуд кожи, увеличение и болезненность лимфоузлов шеи, сонливость, дискомфорт в области левого подреберья, повышение температуры тела. Из анамнеза заболевания известно, что пациентка заболела около трех недель назад – повышение температуры тела до 38,5 °C, заложенность носа, боль в горле. После начала приема амоксиклава (в течение 5 дней) на теле появилась сыпь, сопровождающаяся кожным зудом. В последующие дни лихорадка сохранялась до 39,3 °C, сыпь распространилась по всему телу, появилась одутловатость лица. За период болезни проведена терапия, включающая амоксиклав, таваник, цефтриаксон, ацикловир, кортикостероиды в рекомендованных дозировках без положительного эффекта. Аллергоанамнез неизвестен.

При клиническом осмотре при поступлении в инфекционное отделение: состояние средней тяжести с некоторой отрицательной динамикой в виде

увеличения процента высыпаний на коже лица и туловища, увеличения отека лица. Пациентка в сознании, контактна, ориентирована правильно. Субфебрильно лихорадит, жалобы на высыпания на теле, увеличение лимфоузлов шеи, отечность лица, кистей рук, голеней, стоп. Кожные покровы обычной окраски, умеренной влажности, тургор кожи сохранен. Сыпь на коже лица, верхних и нижних конечностей, туловища пятнисто-папулезная, яркая, обильная, местами сливная. В местах инъекций и области наложения жгута имеются геморрагии. Симптом «щипка» положительный. Отек лица более выражен. Слизистая ротоглотки гиперемирована, миндалины увеличены, наложения в лакунах белого цвета с двух сторон. Шейные лимфоузлы увеличены до 1,5-2,0 см, подчелюстные до 0,5 см, пальпация чувствительна. В легких дыхание жесткое, хрипы аускультативно не выслушиваются. Тоны сердца ритмичные, нормальной звучности. АД 110/70 мм рт. ст. Язык чистый влажный. Живот при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах. Перитонеальных симптомов нет, перистальтика активная, газы отходят. Печень и селезенка не увеличены. Стул оформлен. Мочится достаточно, дизурии нет. Симптом поколачивания по поясничной области отрицательный с двух сторон. Менингеальных знаков и острой очаговой неврологической симптоматики не отмечено.

Результаты клинического анализа крови и общего анализа мочи пациентки при поступлении представлены в таблицах В.5 и В.6. Дополнительно проведены исследования коагуляционного гемостаза (МНО – 1,224) и биохимический анализ крови (щелочная фосфатаза, ед/л - 642,0; АЛТ, МЕ/л - 30,0; АСТ, МЕ/л - 27,0; мочевая кислота, мкмоль/ $\pi - 398,0$) женщины. При обследовании методом ПЦР-РВ в цельной венозной крови определены ДНК S.humanalpha1, ДНК S.humanalpha2, V.humanalpha3, ДНК L.humangamma4, ДНК C.humanbeta5, ДНК ДНК R.humanbeta7, ДНК E.primate1, ДНК Staphylococcus spp.; РНК Enterovirus spp. не выявлены; определена ДНК ВГЧ-6a/b в концентрации $5.84~\mathrm{lg}$ копий/ 10^5 клеток (лабораторный маркер активной ВГЧ-6а/b-инфекции) при отсутствии АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b (коэффициент позитивности 0,35); АТ-IgM к АГ ВЭБ, ЦМВ и наличии AT-IgG к АГ ЦМВ (547,9 АЕ/мл) в сыворотке венозной крови.

Таблица В.5 – Результаты клинического анализа крови женщины (27 лет) при поступлении в инфекционное отделение

Аналит, единицы измерения	Значение
Гемоглобин, г/л	136
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,75
Тромбоциты, $10^9/л$	234
Лейкоциты, $10^9/л$	20,8
палочкоядерные, %	13
сегментоядерные, %	32
Нейтрофилы, $10^9/л$	965
эозинофилы, %	3
базофилы, %	1
моноциты, %	7
лимфоциты, %	51*
СОЭ, мм/ч	32

 Π р и м е ч а н и е - *Ha 100 лимфоцитов 31 клетка с широкой базофильной цитоплазмой (атипичных мононуклеаров)

Таблица В.6 – Результаты общего анализа мочи женщины (27 лет) при поступлении в инфекционное отделение

Аналит, единицы измерения	Значение
Относительная плотность, г/мл	1,023
рН, единицы	6,0
Белок, г/л	0,15
Лейкоциты, единицы в поле зрения, абс.	1–3
Эритроциты, единицы в поле зрения, абс.	1–3
Бактерии, единицы в поле зрения, абс.	9,5x10 ⁵

Проведены инструментальные исследования: рентгенография органов грудной клетки (патологии в легких не выявлено) и УЗИ органов брюшной полости

(расширение чашечно-лоханочной системы обоих почек, мезаденит).

На основании полученных клинико-лабораторных данных проводился дифференциальный диагноз между течением токсико-аллергической реакции на фоне ОРВИ и инфекционным мононуклеозом ВГЧ-6а/b-этиологии. Учитывая высокую концентрацию ДНК ВГЧ-6а/b в цельной венозной крови пациентки принято решение о необходимости исключения у пациентки наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса, что имело решающее значение при назначении специфической противовирусной терапии. Для этого дополнительно исследовали образцы ногтевых пластин и волосяных фолликулов женщины методом ПЦР-РВ в количественном формате и проводили клинико-лабораторное обследование ее биологических родителей (условно здоровы, жалоб не предъявляли, показатели клинического и биохимического анализов крови — в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи — без патологии), включающее выявление ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и волосяных фолликулов методом ПЦР-РВ в количественном формате. Результаты лабораторного обследования представлены в таблице В.7.

Таблица В.7 — Результаты выявления и количественного определения специфических маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у членов семьи без наследственной передачи хиВГЧ-6а/b

Вид биологического материала;		Пациент	
аналит, единицы измерения; метод	женщина	мать	отец
исследования			
Сыворотка венозной крови;	0,35	5,25	0,20
вирусоспецифические AT-IgG,			
коэффициент позитивности, ИФА			
Цельная венозная кровь; ДНК	5,84	не обнаружено	не обнаружено
R.humanbeta6a/b,			
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ			

Продолжение таблицы В.7

Вид биологического материала;		Пациент	
аналит, единицы измерения; метод	женщина	мать	отец
исследования			
Волосяные фолликулы; ДНК	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
<i>R.humanbeta6a/b</i> , lg копий/10 ⁵			
клеток; ПЦР-РВ			
Ногтевые пластины; ДНК	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено
<i>R.humanbeta6a/b</i> , lg копий/10 ⁵			
клеток; ПЦР-РВ			

На основании проведенного лабораторного обследования у пациентки исключен наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус и подтверждена активная форма ВГЧ-6b-инфекции, протекающая в форме атипичного инфекционного мононуклеоза. Видовая идентификация вируса – ВГЧ-6b (*R.humanbeta6b*) – определена на полученных основании данных, при использовании метода массового параллельного секвенирования. К терапии подключен препарат прямого противовирусного действия (валганцикловир) в рекомендованной дозировке, продолжена дезинтоксикационная и инфузионная терапия. На фоне проводимой комплексной терапии в отделении самочувствие женщины улучшилось. При повторном лабораторном обследовании, проведенном методами ПЦР-РВ и ИФА, концентрация ДНК ВГЧ-6b в крови снизилась до 2,75 lg копий/10⁵ клеток при наличии AT-IgG к AГ BГЧ-6a/b (коэффициент позитивности 6,50). Пациентка выписана на 18-й день заболевания в удовлетворительном состоянии.

В дальнейшем на амбулаторном этапе проведено динамическое лабораторное обследование женщины (через 21 день после окончания курса комплексной терапии): ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной венозной крови методом ПЦР-РВ не выявлена, в сыворотке крови обнаружены АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b (коэффициент позитивности 8,20) методом ИФА.

Данный пример демонстрирует развитие у женщины в возрасте 27 лет клинической формы первичной ВГЧ-6b-инфекции (инфекционный мононуклеоз

ВГЧ-6b-этиологии), подтвержденной лабораторно с применением прямых (определение ДНК вируса (ПЦР-РВ) в цельной венозной крови) и косвенных (обнаружение сероконверсии (перехода отрицательного результата положительный) AT-IgG к AГ ВГЧ-6а/b (ИФА) при исследовании парных образцов сыворотки венозной крови) методов диагностики. Несмотря на выявление высокой концентрации ДНК вируса (5,84 lg копий/10⁵ клеток) в цельной венозной крови при обследовании наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус первичном пациентки подтвержден, что обосновано отсутствием ДНК вируса в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов, а также последующим снижением ее концентрации в крови до неопределяемого уровня после проведения комплексной терапии (контрольное обследование через 21 день после завершения курса). При этом учтено, что у ближайших родственников женщины (биологические родители: отец) наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус не выявлен. Исключение наследуемого хиВГЧ-6b-статуса и верификация инфекционного мононуклеоза ВГЧ-6b-этиологии явились основанием для своевременного выбора оптимальной тактики ведения пациентки и назначения адекватной противовирусной терапии в составе комплексной, что привело к клиническому выздоровлению женщины.

Клинический пример 4. Пациент (мальчик, 1 год 6 месяцев) с лабораторно неподтвержденным наследуемым хиВГЧ-6а/b-статусом впоследствии, имеющий значения концентрации ДНК вируса в образцах цельной венозной крови -5,38 lg копий/ 10^5 клеток, ногтевых пластин -4,55 lg копий/ 10^5 клеток, волосяных фолликулов -4,30 lg копий/ 10^5 клеток.

Мальчик (2018 г.р.) доставлен бригадой скорой медицинской помощи в детское инфекционное отделение клинической больницы на вторые сутки от начала заболевания. Жалобы при поступлении: лихорадка до 39 °C в течение двух суток, осиплость голоса. Со слов матери во время промывания носа солевым раствором на фоне повышения температуры до 38 °C возникли подергивания конечностей без потери сознания (отмечалось впервые), после приступа – вялый,

адинамичный. За время наблюдения фельдшером бригады скорой медицинской помощи судороги не повторялись.

При клиническом осмотре при поступлении в инфекционное отделение: состояние средней тяжести, лихорадит до 39 °C. Кожные покровы – обычной окраски, чистые, влажные. При осмотре полости рта: видимые слизистые чистые, отмечается выраженный отек в области верхних клыков с обеих сторон; задняя гиперемирована, умеренно стенка глотки зерниста; миндалины – гиперемированы, увеличены до 3-й степени, налетов нет; явления гранулярного фарингита; язык чистый. Лимфоузлы увеличены до 12–15 мм в шейных группах, безболезненные, мягкой эластичной консистенции, не спаяны между собой и тканями; до 3-х в группе. Носовое дыхание – свободное, слизистое отделяемое. Малопродуктивный кашель, осиплость голоса. В легких дыхание жесткое, проводные хрипы. ЧДД 30 д.д./мин. Сердечные тоны ясные, ритмичные, верхушке. ЧСС 132 уд./мин. систолический ШУМ на Живот мягкий, безболезненный. Печень выступает на 1,5 см из-под края реберной дуги по среднеключичной линии. Селезенка не пальпируется. Стул 1–2 раза в день, неоформленный, без патологических признаков.

В инфекционном отделении проведены консультации специалистов: врачаневролога и врача-офтальмолога. Получено заключение: по данным ЭЭГ и Эхо-ЭГ патологии не выявлено, фебрильный приступ. Офтальмостатус: ОU спокойны. Оптические среды прозрачны. Глазное дно: диск зрительного нерва бледнорозовый, границы четкие, сосуды не изменены.

Результаты клинического анализа крови мальчика при поступлении в инфекционное отделение и выписке представлены в таблице В.8. Общий анализ мочи пациента при поступлении в инфекционное отделение и выписке — без патологии. При лабораторном обследовании ребенка при поступлении выявлена ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ в образцах цельной крови и слюны в концентрации 5,38 lg копий/10⁵ клеток и 7 800 000 копий ДНК/мл, соответственно, при отсутствии АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b в сыворотке венозной крови.

Таблица В.8 – Результаты клинического анализа крови мальчика (1 год 6 месяцев) при поступлении в инфекционное отделение и выписке

Аналит, единицы измерения	Значение		
	при поступлении	при выписке	
Гемоглобин, г/л	129	123	
Эритроциты, 10^{12} /л	5,14	5,63	
Тромбоциты, 10^9 /л	229	152	
Лейкоциты, $10^9/л$	7,5	5,07	
палочкоядерные, %	2	1	
сегментоядерные, %	57	22	
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	4,4	1,65	
эозинофилы, %	0	1	
базофилы, %	0	0	
моноциты, %	13	9	
лимфоциты, %	28	67	
СОЭ, мм/ч	11	3	

На основании клинико-лабораторных данных (возникновение атипичного фебрильного судорожного приступа на фоне проведения ирригационноэлиминационной терапии, изменения в клиническом анализе крови, нехарактерные для ВГЧ-6а/b-инфекции) проводился дифференциальный диагноз по судорожному синдрому для исключения дебюта неврологической патологии и фебрильных судорожных приступов на фоне течения вирусной инфекции, а также принято решение о необходимости исключения или подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса пациента. Для этого дополнительно исследовали образцы ногтевых пластин и волосяных фолликулов ребенка методом ПЦР-РВ в количественном формате. Согласно результатам которой концентрация ДНК ВГЧ-6а/b составила 4,55 и 4,30 lg копий/10⁵ клеток для данных видов биологического материала соответственно.

На фоне проводимой в отделении комплексной терапии самочувствие пациента улучшилось, выписан на 12-й день заболевания в удовлетворительном состоянии с рекомендациями верификации наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. При повторном лабораторном обследовании мальчика перед выпиской методом ПЦР-РВ выявлена ДНК ВГЧ-6а/b в образцах цельной крови в концентрации 1,45 lg копий/10⁵ клеток, слюны — менее 400 копий/мл; в сыворотке крови обнаружены АТ IgG к АГ ВГЧ-6а/b методом ИФА (коэффициент позитивности 8,36).

В дальнейшем, в отделе молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в рамках расшифровки случая наследственной передачи хиВГЧ-6а/в проведено лабораторное обследование мальчика через 4 месяца после госпитализации и трех его ближайших родственников (матери, отца, родной сестры). На момент клинико-лабораторного обследования все пациенты жалоб не предъявляли, клинических симптомов активной инфекции У выявлено. Показатели клинического них не биохимического анализов крови – в пределах диапазона референсных значений, общий анализ мочи – без патологии. Результаты лабораторного обследования членов семьи без наследственной передачи хиВГЧ-6а/b, полученные в отделе молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора представлены в таблице В.9.

Из таблицы В.9 видно, что ни у одного из обследуемых, ни в одном из исследуемых локусов ДНК ВГЧ-6а/b методом ПЦР-РВ не выявлена. В сыворотке венозной крови у 3 из 4 человек (в том числе и у описываемого мальчика) методом ИФА обнаружены АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b (коэффициент позитивности варьировал от 3,97 до 10,39) без увеличения в динамике, косвенно свидетельствующие о перенесенной ВГЧ-6а/b-инфекции и отсутствии активного процесса на момент обследования. А у 1 из 4 обследованного в образце сыворотки крови АТ-IgG к АГ ВГЧ-6а/b не выявлены (коэффициент позитивности 0,28), что указывало на отсутствие данных, лабораторно подтверждающих инфицирование вирусом.

Таблица В.9 — Результаты качественного и количественного определения специфических маркеров ВГЧ-6а/b-инфекции у членов семьи без наследственной передачи хиВГЧ-6а/b, полученные в отделе молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Вид биологического материала;		Пац	иент	
аналит, единицы измерения; метод	мальчик	мать	отец	сестра
исследования	(1 год 10			
	месяцев)			
Сыворотка венозной крови;	10,39	5,25	3,97	0,20
вирусоспецифические AT-IgG,				
коэффициент позитивности, ИФА				
Цельная венозная кровь; ДНК	не обнару-	не обнару-	не обнару-	не обнару-
R.humanbeta6a/b,	жено	жено	жено	жено
lg копий/10 ⁵ клеток; ПЦР-РВ				
Волосяные фолликулы; ДНК	не обнару-	не обнару-	не обнару-	не обнару-
$R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток;	жено	жено	жено	жено
ПЦР-РВ				
Ногтевые пластины; ДНК	не обнару-	не обнару-	не обнару-	не обнару-
$R.humanbeta6a/b$, lg копий/ 10^5 клеток;	жено	жено	жено	жено
ПЦР-РВ				

Анализ полученных результатов ПЦР-тестирования свидетельствовал об отсутствии наследуемого хиВГЧ-6а/b-статуса у всех членов одной семьи (мальчика, его биологических родителей и родной сестры). Следует подчеркнуть, что при проведении верификации первичное установление хиВГЧ-6а/b-статуса, передаваемого по наследству, ребенка (1 год 10 месяцев) при обследовании его в возрасте 1 год 6 месяцев признано ошибочным. Несоблюдение критериев трактовки определяемой концентрации ДНК ВГЧ-6а/b в тестируемых образцах биологического материала, согласно представленному нами инновационному способу [267], привело к затруднениям в интерпретации данных ПЦР-анализа.

Данный пример демонстрирует развитие у мальчика в возрасте 1 год 6 клинической первичной ВГЧ-6а/b-инфекции месяцев формы (лихорадка, фебрильные судорожные приступы), подтвержденной лабораторно с применением прямых методов лабораторной диагностики (выявление ДНК R.humanbeta6a/b образцах цельной венозной крови, слюны). Несмотря на (ПЦР-РВ) в предположительное выявление (при первичном обследовании) наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус ребенка в дальнейшем не подтвержден, что обосновано отсутствием ДНК вируса в образцах ногтевых пластин и волосяных фолликулов, а также снижением ее концентрации в крови до неопределяемого уровня при верификации. Учтено, что у ближайших родственников ребенка (3 человека) наследуемый хиВГЧ-6а/b-статус не выявлен.

Приложение Г

(справочное)

Расчет необходимого количества наблюдений при изучении распространенности хромосомно-интегрированных Roseolovirus humanbeta6a и Roseolovirus humanbeta6b, передаваемых по наследству

Таблица Г.1 – Ожидаемая вероятность отсутствия выявления обследуемого с наследуемым хромосомно-интегрированным Roseolovirus humanbeta6a или Roseolovirus humanbeta6b, %

Ожидаемая					1	Количество наблюдений, абс.	ю наблюд	ений, абс.					
вероятность	09	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300
носительства, %													
0,20	88,69	85,21	81,87	78,66	75,58	72,61	69,77	67,03	64,40	61,88	59,45	57,12	54,88
0,40	78,66	72,61	67,03	61,88	57,12	52,73	48,68	44,93	41,48	38,29	35,35	32,63	30,12
0,60	69,77	61,88	54,88	48,68	43,17	38,29	33,96	30,12	26,71	23,69	21,01	18,64	16,53
0,80	61,88	52,73	44,93	38,29	32,63	27,80	23,69	20,19	17,20	14,66	12,49	10,65	6,07
1,00	54,88	44,93	36,79	30,12	24,66	20,19	16,53	13,53	11,08	6,07	7,43	80,9	4,98
1,20	48,68	38,29	30,12	23,69	18,64	14,66	11,53	6,07	7,14	5,61	4,42	3,47	2,73
1,40	43,17	32,63	24,66	18,64	14,09	10,65	8,05	80,9	4,60	3,47	2,63	1,98	1,50
1,60	38,29	27,80	20,19	14,66	10,65	7,73	5,61	4,08	2,96	2,15	1,56	1,13	0,82
1,80	33,96	23,69	16,53	11,53	8,05	5,61	3,92	2,73	1,91	1,33	0,93	0,65	0,45

Продолжение таблицы Г.1

Ожидаемая					Y	Количество наблюдений, абс.	ю наблюд	ений, абс.					
вероятность	09	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300
носительства, %													
2,00	30,12	20,19	13,53	6,07	80,9	4,08	2,73	1,83	1,23	0,82	0,55	0,37	0,25
2,20	26,71	17,20	11,08	7,14	4,60	2,96	1,91	1,23	0,79	0,51	0,33	0,21	0,14
2,40	23,69	14,66	9,07	5,61	3,47	2,15	1,33	0,82	0,51	0,32	0,19	0,12	0,07
2,60	21,01	12,49	7,43	4,42	2,63	1,56	0,93	0,55	0,33	0,19	0,12	0,07	0,04
2,80	18,64	10,65	80,9	3,47	1,98	1,13	0,65	0,37	0,21	0,12	0,07	0,04	0,02
3,00	16,53	6,07	4,98	2,73	1,50	0,82	0,45	0,25	0,14	0,07	0,04	0,02	0,01
3,20	14,66	7,73	4,08	2,15	1,13	09,0	0,32	0,17	60,0	0,05	0,02	0,01	0,01
3,40	13,00	6,59	3,34	1,69	98,0	0,43	0,22	0,11	90,0	0,03	0,01	0,01	0
3,60	11,53	5,61	2,73	1,33	9,65	0,32	0,15	0,07	0,04	0,02	0,01	0	0

Таблица Г.1 (продолжение) – Ожидаемая вероятность отсутствия выявления обследуемого с наследуемым хромосомноинтегрированным Roseolovirus humanbeta6a или Roseolovirus humanbeta6b, %

			1		1	1	1		1	1		1	1		1	1	
	2000		1,83	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1800		2,73	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1600		4,08	0,17	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ий, абс.	1400		80,9	0,37	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
аблюден	1200		6,07	0,82	0,07	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество наблюдений, абс.	1000		13,53	1,83	0,25	0,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ko.	800		20,19	4,08	0,82	0,17	0,03	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	009		30,12	6,07	2,73	0,82	0,25	0,07	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0
	400		44,93	20,19	6,07	4,08	1,83	0,82	0,37	0,17	0,07	0,03	0,02	0,01	0	0	0
Ожидаемая	вероятность	носительства, %	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	1,20	1,40	1,60	1,80	2,00	2,20	2,40	2,60	2,80	3,00

Продолжение таблицы Г.1 (продолжение)

Ожидаемая			Ko	Количество наблюдений, абс.	таблюден	ий, абс.			
вероятность	400	009	008	1000	1200	1200 1400	1600	1800	2000
носительства, %									
3,20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,60	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Таблица Г.2 – Ожидаемая вероятность выявления хотя бы одного обследуемого с наследуемым хромосомноинтегрированым Roseolovirus humanbeta6a или Roseolovirus humanbeta6b, %

Ожидаемая						Количест	гво наблк	Количество наблюдений, абс.	Jc.				
вероятность	09	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300
носительства, %													
0,20	11,31	14,79	18,13	21,34	24,42	27,39	30,23	32,97	35,60	38,12	40,55	42,88	45,12
0,40	21,34	27,39	32,97	38,12	42,88	47,27	51,32	55,07	58,52	61,71	64,65	67,37	88,69
0,60	30,23	38,12	45,12	51,32	56,83	61,71	66,04	88,69	73,29	76,31	78,99	81,36	83,47
0,80	38,12	47,27	55,07	61,71	67,37	72,20	76,31	79,81	82,80	85,34	87,51	89,35	90,93
1,00	45,12	55,07	63,21	88'69	75,34	79,81	83,47	86,47	88,92	90,93	92,57	93,92	95,02
1,20	51,32	61,71	88'69	76,31	81,36	85,34	88,47	66'06	92,86	94,39	95,58	96,53	97,27
1,40	56,83	67,37	75,34	81,36	85,91	89,35	91,95	93,92	95,40	96,53	97,37	98,02	98,50
1,60	61,71	72,20	79,81	85,34	89,35	92,27	94,39	95,92	97,04	97,85	98,44	78,87	99,18
1,80	66,04	76,31	83,47	88,47	91,95	94,39	80,96	97,27	60,86	29,86	20,66	99,35	99,55
2,00	88,69	79,81	86,47	90,93	93,92	95,92	97,27	98,17	72,86	81,66	99,45	69,63	99,75
2,20	73,29	82,80	88,92	92,86	95,40	97,04	60,86	72,86	99,21	99,49	29,66	62,66	98,66
2,40	76,31	85,34	90,93	94,39	96,53	58,76	29,86	81,66	99,49	89,66	18,66	88,66	99,93
2,60	78,99	87,51	92,57	95,58	97,37	98,44	20,66	99,45	29,66	18,66	88'66	66,66	96,66
2,80	81,36	89,35	93,92	96,53	98,02	78,86	99,35	69,63	62'66	88'66	66,66	96,66	86,66
3,00	83,47	90,93	95,02	97,27	98,50	99,18	55,66	52,66	98,66	99,93	96,66	86,66	66,66

Продолжение таблицы Г.2

	300	66,66	100	100
	280	66,66	66,66	100
	260	86,66	66,66	66,66
	240	56,66	76,66	86,66
Sc.	220	16,99	99,94	96,66
Количество наблюдений, абс.	200	99,83	68,66	99,93
гво наблю	180	89,66	82,66	58,66
Количест	160	99,40	75,66	89,66
	140	78,86	99,14	99,35
	120	97,85	98,31	68,67
	100	95,92	99,96	94,39 97,27 98,67
	08	92,27	93,41	94,39
	09	85,34	87,00	88,47
Ожидаемая	вероятность носительства, %	3,20	3,40	3,60

Таблица Г.2 (продолжение) – Ожидаемая вероятность выявления хотя бы одного обследуемого с наследуемым хромосомно-интегрированым Roseolovirus humanbeta6a или Roseolovirus humanbeta6b, %

Ожидаемая				Количест	Количество наблюдений, абс.	цений, абс.			
вероятность	400	009	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
носительства, %									
0,20	55,07	88,69	79,81	86,47	90,93	93,92	95,92	97,27	98,17
0,40	79,81	90,93	95,92	98,17	99,18	69,63	68,66	66,66	26,99
0,60	90,93	97,27	99,18	52,66	99,93	86,66	66,66	100	100
0,80	95,92	99,18	99,83	26,99	66,66	100	100	100	100
1,00	98,17	52,66	26,99	100	100	100	100	100	100
1,20	81,66	99,93	66,66	100	100	100	100	100	100
1,40	69,63	86,98	100	100	100	100	100	100	100

Продолжение таблицы Г.2 (продолжение)

Ожидаемая				Количест	Количество наблюдений, абс.	ений, абс.			
вероятность	400	009	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
носительства, %									
1,60	99,83	66,66	100	100	100	100	100	100	100
1,80	99,93	100	100	100	100	100	100	100	100
2,00	76,96	100	100	100	100	100	100	100	100
2,20	86,66	100	100	100	100	100	100	100	100
2,40	66,66	100	100	100	100	100	100	100	100
2,60	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2,80	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3,00	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3,20	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3,40	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3,60	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Таблица Г.3 – Ожидаемая вероятность выявления не более одного обследуемого с наследуемым хромосомноинтегрированым Roseolovirus humanbetaба или Roseolovirus humanbetaбb, %

Ожидаемая					K	Количество наблюдений, абс.	о наблюд	ений, абс					
вероятность	09	08	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300
носительства, %													
0,20	99,34	98,85	98,25	97,54	96,74	95,85	94,88	93,84	92,74	91,58	90,37	89,11	87,81
0,40	97,54	95,85	93,84	91,58	89,11	86,48	83,72	88,08	77,98	75,05	72,10	69,17	66,26
0,60	94,88	91,58	87,81	83,72	79,43	75,05	70,64	66,26	61,98	57,81	53,79	49,95	46,28
0,80	91,58	86,48	88,08	75,05	69,17	63,3	57,81	52,49	47,48	42,81	38,48	34,49	30,84
1,00	87,81	88,08	73,58	66,26	59,18	52,49	46,28	40,60	35,46	30,84	26,74	23,11	19,91
1,20	83,72	75,05	66,26	57,81	49,95	42,81	36,44	30,84	25,9	21,78	18,19	15,14	12,57
1,40	79,43	69,17	59,18	49,95	41,69	34,49	28,32	23,11	18,75	15,14	12,18	9,76	7,80
1,60	75,05	63,39	52,49	42,81	34,49	27,52	21,78	17,12	13,38	10,40	8,05	6,21	4,77
1,80	70,64	57,81	46,28	36,44	28,32	21,78	16,61	12,57	9,46	7,08	5,27	3,91	2,89
2,00	66,26	52,49	40,60	30,84	23,11	17,12	12,57	9,16	6,63	4,77	3,42	2,44	1,74
2,20	61,98	47,48	35,46	25,98	18,75	13,38	9,46	6,63	4,62	3,20	2,20	1,51	1,03
2,40	57,81	42,81	30,84	21,78	15,14	10,4	7,08	4,77	3,20	2,13	1,41	0,93	0,61
2,60	53,79	38,48	26,74	18,19	12,18	8,05	5,27	3,42	2,20	1,41	06,0	0,57	0,36
2,80	49,95	34,49	23,11	15,14	9,76	6,21	3,91	2,44	1,51	0,93	0,57	0,35	0,21
3,00	46,28	30,84	16,91	12,57	7,80	4,77	2,89	1,74	1,03	0,61	0,36	0,21	0,12

Продолжение таблицы Г.3

	300	0,07	0,04	0,02
	280	0,13	80,0	0,05
	260	0,23	0,14	60,0
	240	0,40	0,26	0,17
.:	220	0,70	0,48	0,32
Количество наблюдений, абс.	200	1,23	0,87	0,61
во наблюд	180	2,13	1,57	1,15
Количеств	160	3,66	2,79	2,13
ł	140	6,21	4,93	3,91
	120	10,40	8,59	7,08
	100	17,12	14,68	12,57
	08	27,52	39,53 24,51 14,68	36,44 21,78 12,57
	09	42,81	39,53	36,44
Ожидаемая	вероятность носительства, %	3,20	3,40	3,60

Таблица Г.4 – Ожидаемая вероятность выявления более одного обследуемого с наследуемым хромосомноинтегрированым Roseolovirus humanbetaба или Roseolovirus humanbetaбb, %

Продолжение таблицы Г.4

Ожидаемая						Количество наблюдений, абс.	ю наблюд	ений, абс					
вероятность	09	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300
носительства, %													
1,40	20,57	30,83	40,82	50,05	58,31	65,51	71,68	68'92	81,25	84,86	87,82	90,24	92,20
1,60	24,95	36,61	47,51	57,19	65,51	72,48	78,22	82,88	86,62	89,60	91,95	93,79	95,23
1,80	29,36	42,19	53,72	63,56	71,68	78,22	83,39	87,43	90,54	92,92	94,73	60,96	97,11
2,00	33,74	47,51	59,40	69,16	76,89	82,88	87,43	90,84	93,37	95,23	96,58	92,76	98,26
2,20	38,02	52,52	64,54	74,02	81,25	86,62	90,54	93,37	95,38	08,96	97,80	98,49	76,86
2,40	42,19	57,19	69,16	78,22	84,86	89,60	92,92	95,23	08,96	97,87	98,59	70,66	99,39
2,60	46,21	61,52	73,26	81,81	87,82	91,95	94,73	85'96	97,80	98,59	99,10	99,43	99,64
2,80	50,05	65,51	68'92	84,86	90,24	93,79	60,96	92,26	98,49	70,66	99,43	59,66	62,66
3,00	53,72	69,16	80,09	87,43	92,20	95,23	97,11	98,26	76,86	99,39	99,64	62'66	88,66
3,20	57,19	72,48	82,88	89,60	93,79	96,34	78,76	98,77	99,30	09,66	72,66	78,66	99,93
3,40	60,47	75,49	85,32	91,41	95,07	97,21	98,43	99,13	99,52	99,74	98,66	99,92	96,66
3,60	63,56	78,22	87,43	92,92	60,96	97,87	98,85	99,39	89,66	99,83	16,66	56,66	86,66

Таблица Г.5 – 95% доверительные границы для экспериментальной частоты обнаружения обследуемого с наследуемым хромосомно-интегрированым Roseolovirus humanbeta6a или Roseolovirus humanbeta6b, %

Ожидаемая вероятность			Кол	Количество наблюдений, абс.	ений, абс.		
носительства, %	09	100	140	180	220	260	300
0,20	0-1,67	0-1,0	0-1,43	0-1,11	0-0,91	0-0,77	0-0,67
0,40	0-1,67	0-2,0	0–1,43	0-1,67	0-1,36	0-1,15	0–1,33
0,60	0–3,33	0-2,0	0–2,14	0-1,67	0-1,8	0-1,54	0-1,67
0,80	0–3,33	0-3,0	0–2,86	0–2,22	0-2,27	0-1,92	0-2,0
1,00	0–3,33	0-3,0	0–2,86	0–2,78	0-2,27	0–2,31	0–2,33
1,20	0-5,00	0-4,0	0–3,57	0–2,78	0–2,73	0–2,69	0–2,67
1,40	0-5,00	0-4,0	0–3,57	0–3,33	0–3,18	0-3,08	0,33-3,0
1,60	0-5,00	0-4,0	0-4,29	0–3,89	0-3,64	0,38–3,46	0,33-3,0
1,80	0-5,00	0-5,0	0-4,29	0-3,8%	0,45–3,64	0,38–3,46	0,33–3,33
2,00	0-6,67	0-5.0	0-4,29	0-4,44	0,45-4,0	0,38–3,85	0,67–3,67
2,20	0-6,67	0-5.0	0-5.0	0,56-4,44	0,45-4,0	0,77-4,23	0,67-4,0
2,40	19,9–0	0,9–0	0-5.0	0,56-5,0	0,45-4,55	0,77-4,23	1,0–4,33
2,60	0-6,67	0,9–0	0–5,71	0,56-5,0	0,91-5,0	0,77-4,62	1,0–4,67
2,80	0–8,33	0,9–0	0,71–5,71	0,56–5,56	0,91-5,0	1,15–5,0	1,0–4,67
3,00	0-8,33	0-7,0	0,71–6,43	0,56–5,56	0,91–5,45	1,15–5,38	1,33–5,0
3,20	0-8,33	0-7,0	0,71–6,43	1,11–6,11	0,91–5,91	1,15–5,38	1,33–5,33

Продолжение таблицы Г.5

Ожидаемая вероятность			Кол	Количество наблюдений, абс.	ений, абс.		
носительства, %	09	100	140	180	220	260	300
3,40	0-8,33	0-7,0	0,71–6,43	1,11–6,11	1,36–5,91	1,54–5,77	1,67–5,67
3,60	0-8,33	0,8-0	0,71–7,14	1,11–6,67	1,36–6,36	1,54–6,15	1,67–6,0

Ħ
Ие
ен
оже
ИЛ
Π

(справочное)

Анкета эксперта

• ФИО			
• Место работы и должность	и должность		
• Образование по диплому	ю диплому		
• Специальность по диплому	ь по диплому		
• Ученая степень	b		
• Ученое звание			
• Общий стаж работы, лет	аботы, лет		
• Стаж работы в	Стаж работы в неонатологии, лет		
Заполните, поз	Заполните, пожалуйста, таблицу согласно Вашим собственным данным:	Вашим собственным данным	ü
Период наблюдения,	Количество обследованных	Количество новорожденных с	Количество новорожденных с ВГЧ-6а/b-инфекцией
год	новорожденных в стационаре,	ВУИ, абс.	(подтвержденной лабораторно методом ПЦР), абс.
	a6c.		
2016			
2017			
2018			
2019			

2020

Как Вы видите распределение (%) новорожденных по степени тяжести течения заболевания?

Стопоти такооми	$V_{\text{currenting}}^{0}$	Term purelien orongoniounions amoni menuwanon one aprimed
CICICHB 1AACC1N	NOMBECTEO, 70	Средняя продолжительность стационарного лечения, днеи
Легкая		
Средняя		
Гяжелая		

I. Лекарственные препараты

согласно перечню лекарственных препаратов для медицинского применения, зарегистрированных на территории Российской Федерации, используемых для лечения детей, больных ЦМВИ

- Укажите Ваши ответы только для новорожденных с ВУИ.
- Вычеркните лекарственные препараты, которые не используются в практике / используются редко (не более чем у 10% новорожденных).
- Условные обозначения: степень тяжести течения заболевания Л легкая; С среднетяжелая; Т тяжелая; ЛП • Заполните данные только для лекарственных препаратов, которые используются в не менее чем 90% случаев лекарственный препарат; ЛГ – лекарственная группа

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
III	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				Л	C	Η	Л	C	L	Л	C	П	Л	C	Τ	Л	C	П	Л	С
JIII					ганцикловир			валганцикловир			фоскарнет			интерферон альфа			инозин пранобекс			анаферон детский	
ЛГ					Нуклеозиды и	нуклеотиды					Производные	ортофосфорной кислоты		Интерфероны			Противовирусные	препараты другие			
Š	Щ				П						2			3			4				

Продолжительность	курса																			
Суточная	дозировка,	способ	введения																	
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																
Степень	тяжести				L	П	C	L	П	C	L	Л	C	Н	П	Э	I	П	C	T
Ш						иммуноглобулин человека	антицитомегаловирусный		иммуноглобулин	человека нормальный		альбумин			интерлейкин-2			метамизол натрия		
ЛГ						Иммуноглобулины	специфические		Иммуноглобулины	нормальные	человеческие	Плазмозаменяющие	препараты и белковые фракции	Плазмы	Интерлейкины			Пиразолоны		
Ñ	ЛГ					S			9			7			∞			6		

Продолжительность	курса																				
Сугочная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				Л	C	Н	Л	C	Τ	Л	C	Τ	П	C	Ι	Л	C	Τ	Л	C
Ш					ибупрофен			парацетамол			папаверин			дротаверин			урсодезоксихолевая	кислота		расторопши пятнистой	плодов экстракт сухой
ЛГ					Производные	пропионовой кислоты		Анилиды			Папаверин и	его производные					Препараты	желчных кислот		Препараты для лечения	заболеваний печени
No	ЛГ				10			11			12						13			14	

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				T		Л	C	Ι	П	C	Ι	Л	C	Ι	Л	C	Ι	Л	C	Τ
JIII						rBa	амоксициллин +	клавулановая кислота		азитромицин			кларитромицин			цефотаксим			цефтриаксон		
ЛГ						Антибактериальные средства	Пенициллины в	комбинациях		Макролиды						Цефалоспорины	3-го поколения				
Š	Ш					15	•														

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				П	C	Τ	Л	C	Ι	П	C	Ι	Л	C	Ι	П	C	Ι	Л	C
Ш					ванкомицин			амикацин			менеподем			флуконазол			метронидазол			бифидумбактерии	бифидум
JIL					Антибиотики	гликопептидной	структуры	Аминогликозиды			Карбопенемы			Противогрибковые	средства		Производные	имидазола		Противодиарейные	микроорганизмы
% S	Ш							<u> </u>						16			17			18	

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				L	Л	C	Ι	Л	C	Ι	П	C	Τ	Л	C	Ι	Л	C	T	Л
III						панкреатин			апротинин			добугамин			Допамин			норадреналин			дигоксин
ЛГ						Пищеварительные	ферментные препараты		Ингибиторы	протеиназ плазмы		Адрено- и	допаминомиметики								Сердечные гликозиды
No	П					19			20			21									22

Продолжительность	курса																			
Суточная	дозировка,	способ	введения																	
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																
Степень	тяжести				C	L	П	C	L	П	C	T	П	C	Ι	П	၁	T	П	С
Ш							фуросемид			гепарин натрия			преднизолон			дексаметазон			калия хлорид + кальция	хлорид
ЛГ							Сульфаниламидные	диуретики		Антикоагулянты			Глюкокортикоиды							
Ñ	Ш						23			24			25						76	

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				Τ		Л	C	T	Л	C	T	Л	C	Τ		Л	C	T	Л	C
III					+ магния хлорид + натрия	ацетат + натрия хлорид	калия хлорид + натрия ацетат	+ натрия хлорид		меглюмина натрия сукцинат			натрия хлорида раствор	сложный [калия хлорид +	кальция хлорид +натрия	хлорид]	натрия хлорид			калия хлорид	
ЛГ									Растворы впияющие	на волно-электролитный	баланс						Растворы	электролитов			
Š	ЛГ																27				

Продолжительность	курса																				
Суточная	дозировка,	способ	введения																		
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																	
Степень	тяжести				Τ	Л	C	Τ	Л	C	Τ	П	C	Τ	Л	C	Τ	Л	C	L	Л
IIIC						декстроза			ацетилцистеин			амброксол			сальбугамол			диазепам			этамзилат
ЛГ						Углеводы			Муколитические	препараты					Селективные	бета2-адреномиметики		Производные	бензодиазепина		Другие системные
Ņ	ЛГ					28			56						30			31			32

Продолжительность	курса																			
Суточная	дозировка,	способ	введения																	
Ш	используют	при степени	тяжести,	да / нет																
Степень	тяжести				C	T	П	C	T	Л	C	Τ	П	C	L	Л	Ŋ	Н	П	C
Ш							плазма			эритроцитарная взвесь			фенистил			цетиризин			лоратадин	
ЛГ					гемостатики		Свежезамороженная	плазма		Эритроциты с удаленным	лейкоцитарным слоем		Диметинден			Производные	пиперазина		Другие антигистаминные	средства системного
Š	JIL						33			34			35			36			37	

Š	ЛГ	Ш	Степень	Ш	Сугочная	Продолжительность
Ш			тяжести	используют	дозировка,	курса
				при степени	способ	
				тяжести,	введения	
				да / нет		
	действия		L			

Если в процессе лечения новорожденных с подтвержденным наличием врожденной ВГЧ-6а/b-инфекции Вы используете какие-либо лекарственные препараты, отсутствующие в списке – укажите, пожалуйста, их наименование и количество в течение срока госпитализации (в зависимости от степени тяжести течения заболевания).

2. Лабораторные исследования

- Укажите какие лабораторные исследования Вы использовали в процессе проводимого лечения ПОСЛЕ установления у новорожденного наличия врожденной ВГЧ-6а/b-инфекции.
- Вычеркните исследования, которые не используются в практике / используются редко (не более чем у 10% новорожденных).
- Заполните данные только для тех исследований, которые используются в не менее чем в 90% случаев.
- Дополните таблицу, если это необходимо.

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	погического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
			в процессе	исследо	исследование в процессе	ecce
			лечения,	100	госпитализации	
			да / нет	IC	C	L
	Клинический анализ крови					
2	Общий анализ мочи					
3	Биохимический анализ крови	общий белок				
		креатинин				
		мочевина				
		мочевая кислота				
		билирубин общий и фракции				
		холестерин общий				
		аланин-аминотрансфераза				
		аспартат-аминотрансфераза				
		щелочная фосфатаза				
		глюкоза				
		триглицериды				
		железо				
		кальций (Са2+, Calcium), натрий				
		(Na+, Sodium), калий (K+,				
		Potassium),				
		хлор (Cl-, Chloride)				

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	погического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
			в процессе	исследо	исследование в процессе	ecce
			лечения,	100	госпитализации	
			да / нет	П	C	T
4	Коагулограмма					
S	Исследование иммунного статуса					
9	Исследование СМЖ					
7	ДНК ВГЧ-6а/в методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(качественный формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		CMЖ				
∞	ДНК ВГЧ-6а/в методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(количественный формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				

	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	логического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
			в процессе	исследс	исследование в процессе	ece
			лечения,	100	госпитализации	
			да / нет	П	C	L
		CMЖ				
6	ДНК ЦМВ методом ПЦР (качественный	цельная венозная кровь				
	формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		CMЖ				
10	ДНК ЦМВ методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(количественный формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		CMЖ				

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	логического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
			в процессе	исслед	исследование в процессе	ecce
			лечения,	100	госпитализации	
			да / нет	Г	C	T
11	ДНК ВЭБ методом ПЦР (качественный	цельная венозная кровь				
	формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		СМЖ				
12	ДНК ВЭБ методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(количественный формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		СМЖ				
13	ДНК ВПГ-1/2 методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(качественный формат)	клетки венозной крови				

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	логического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
			в процессе	исслед	исследование в процессе	ecce
			лечения,	100	госпитализации	
			да / нет	IC	C	T
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		СМЖ				
14	ДНК ВПГ-1/2 методом ПЦР	цельная венозная кровь				
	(количественный формат)	клетки венозной крови				
		плазма венозной крови				
		мазок со слизистой оболочки				
		ротоглотки				
		слюна				
		моча				
		CMЖ				
15	АТ-IgM к антигенам ВГЧ-6а/b методом ИФА в сыворотке крови	4 в сыворотке крови				
	(качественный формат)					
16	АТ-IgM к антигенам ВГЧ-6а/b методом ИФА в сыворотке крови	А в сыворотке крови				
	(количественный формат)					

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
		в процессе	исслед	исследование в процессе	ecce
		лечения,	100	госпитализации	
		да / нет	П	Э	T
17	AT-IgG к антигенам ВГЧ-6а/b методом ИФА в сыворотке крови				
	(качественный формат)				
18	AT-IgG к антигенам ВГЧ-6а/b методом ИФА в сыворотке крови				
	(количественный формат)				
19	AT-IgM к антигенам ЦМВ методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(качественный формат)				
20	AT-IgG к антигенам ЦМВ методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(качественный формат)				
21	AT-IgG к антигенам ЦМВ методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(количественный формат)				
22	AT-IgG к антигенам ЦМВ методом ИФА или ХЛИА с определением				
	индекса авидности в сыворотке крови (количественный формат)				
23	AT-IgM к антигенам ВПГ-1/2 методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(качественный формат)				
24	AT-IgG к антигенам ВПГ-1/2 методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(качественный формат)				
25	AT-IgG к антигенам ВПГ-1/2 методом ИФА или ХЛИА в сыворотке крови				
	(количественный формат)				

NoNo	Вид исследования/Аналит/Вид биологического материала	Используется	Сколько ра	Сколько раз назначается данное	данное
		в процессе	исследс	исследование в процессе	ece
		лечения,	ΓΟC	госпитализации	
		да / нет	П	C	T
26	AT-IgG к антигенам ВПГ-1/2 методом ИФА или ХЛИА с определением				
	индекса авидности в сыворотке крови (количественный формат)				
	Примечание – AT-IgG – специфические антитела, иммуноглобулины класса G; AT-IgM – специфические антитела, иммуноглобулины	Т-ІвМ – специф	ические антк	тела, иммуно	лобулины
класса №	класса М; степень тяжести течения заболевания: Л – легкая; С – среднетяжелая; Т – тяжелая; СМЖ – спинномозговая жидкость	ия; СМЖ – спин	номозговая х	кидкость	

• Другие лабораторные исследования. Если в процессе лечения новорожденных с подтвержденным наличием укажите, пожалуйста, их наименование и количество в течение срока госпитализации (в зависимости от степени тяжести врожденной ВГЧ-6а/b-инфекции Вы используете какие-либо лабораторные исследования, отсутствующие в списке течения заболевания).

3. Другие медицинские мероприятия

NeNe	Вид исследования	Используется в	Сколько	Сколько раз назначается данное	данное
		процессе	исследование	исследование в процессе госпитализации	итализации
		лечения, да / нет	Л	C	
1	Нейросонография				
2	УЗИ органов брюшной полости, почек				
3	УЗИ тимуса				
4	Эхокардиография				
5	ЭКГ				
9	Рентген грудной полости				
7	МРТ головного мозга (при наличии возможности выполнения)				
∞	Осмотр офтальмолога				
6	Осмотр невролога				
10	Консультация инфекциониста				
11	Люмбальная пункция при подозрении на поражение ЦНС				
12	Консилиум на применение препаратов off-label				
I	Π р и м е ч а н и е – степень тяжести течения заболевания: Π –	заболевания: Л – легкая; С – среднетяжелая; Т – тяжелая; УЗИ – ультразвуковое	гяжелая; Т – тя	гжелая; УЗИ – у	льтразвуковое
исследо	исследование; ЭКГ – электрокардиография; МРТ – магниторезонансная томография; ЦНС – центральная нервная система	мография; ЦНС – ц	ентральная нерв	ная система	

Если в процессе лечения новорожденных с подтвержденным наличием врожденной ВГЧ-6а/b-инфекции Вы используете какие-либо дополнительные методы / проводите какие-либо дополнительные медицинские мероприятия —

и течения	
тяжести т	
степени	
OT	
зависимости	
и (в	
ге срока госпитализации (в зависимости от степени тяжести те	
срока	
ени	
0 B	
і количеств	
е и	
кажите их наименование и количество в теч	
ИХ	ВИН
укажите	забопевани

Эксперт (ФИО)_

дата подпись