

# РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

DOI: 10.17691/stm2017.9.3.15

УДК 616.34:616.98:614.21–036.22

Поступила 26.01.2017 г.



**В.В. Шкарин**, д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор-консультант кафедры эпидемиологии<sup>1</sup>;

**А.В. Сергеева**, к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, зав. проблемной научной лабораторией ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины<sup>1</sup>;

**Л.Ю. Послова**, к.м.н., зав. эпидемиологическим отделом<sup>2</sup>;

**О.В. Ковалишена**, д.м.н., и.о. зав. кафедрой эпидемиологии, зам. директора по науке НИИ профилактической медицины<sup>1</sup>;

**А.С. Благодравова**, д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии, директор НИИ профилактической медицины<sup>1</sup>;

**Н.В. Епифанова**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций<sup>3</sup>;

**Т.А. Сашина**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций<sup>3</sup>;

**О.В. Морозова**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций<sup>3</sup>;

**Н.А. Новикова**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>2</sup>Нижегородская областная детская клиническая больница, Н. Новгород, 603136, ул. Ванеева, 211;

<sup>3</sup>Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Н. Новгород, 603950, ул. Малая Ямская, 71

**Цель исследования** — повышение эффективности микробиологического мониторинга путем его оптимизации и разработки молекулярно-генетического компонента на основании комплексного многолетнего наблюдения за внутрибольничными острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии.

**Материалы и методы.** В рамках эпидемиологического надзора за внутрибольничными инфекциями вирусной этиологии в детском стационаре была внедрена синдромальная диагностика случаев острых кишечных инфекций — выявление и обследование пациентов с признаками дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием. Выявление и дифференциацию ДНК (РНК) острых кишечных инфекций вирусной этиологии проводили методом ПЦР-диагностики. G[P]-типирование ротавирусов осуществляли методом ОТ-ПЦР с помощью различных праймеров. Генотипирование кишечных вирусов методом секвенирования выполняли путем определения соответствующих нуклеотидных последовательностей фрагментов кДНК для ротавирусов, норовирусов и астровирусов с использованием генетического анализатора Beckman Coulter. Нуклеотидные последовательности фрагментов кДНК анализировали с применением пакета программ BLAST для идентификации близкородственных штаммов и онлайн-сервиса для автоматического генотипирования норовирусов. Выравнивание нуклеотидных последовательностей и филогенетический анализ осуществляли с помощью программного обеспечения MEGA. Полученные в данном исследовании последовательности фрагментов генома представлены в международной базе данных GenBank.

**Результаты.** Разработан молекулярно-генетический компонент микробиологического мониторинга острых кишечных инфекций вирусной этиологии, включающий в себя не только диагностику кишечных возбудителей методом ПЦР, но и дальнейшее проведение различных видов генотипирования, а также филогенетический анализ для определения генетических характеристик возбудителей.

**Ключевые слова:** эпидемиологический надзор; внутрибольничные инфекции; острые кишечные инфекции вирусной этиологии; микробиологический мониторинг; норовирусы; ротавирусы; аденовирусы; астровирусы.

**Как цитировать:** Shkarin V.V., Sergeeva A.V., Poslova L.Y., Kovalishena O.V., Blagonravova A.S., Epifanova N.V., Sashina T.A., Morozova O.V., Novikova N.A. Developing the molecular genetic component of microbiological monitoring of nosocomial acute enteric viral infections. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(3): 110–118, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.3.15>

**Для контактов:** Сергеева Анжелика Вячеславовна, e-mail: [sergeeva-av2013@yandex.ru](mailto:sergeeva-av2013@yandex.ru)

## Developing the Molecular Genetic Component of Microbiological Monitoring of Nosocomial Acute Enteric Viral Infections

**V.V. Shkarin**, MD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Consulting Professor, Department of Epidemiology<sup>1</sup>;

**A.V. Sergeeva**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Epidemiology,

Head of the Problem Research Laboratory of PCR Studies, Scientific Research Institute of Preventive Medicine<sup>1</sup>;

**L.Y. Poslova**, MD, PhD, Head of Epidemiological Department<sup>2</sup>;

**O.V. Kovalishena**, MD, DSc, Interim Head of the Department of Epidemiology; Deputy Director of Research, Scientific Research Institute of Preventive Medicine<sup>1</sup>;

**A.S. Blagonravova**, MD, DSc, Professor, Department of Epidemiology, Director of the Scientific Research Institute of Preventive Medicine<sup>1</sup>;

**N.V. Epifanova**, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections<sup>3</sup>;

**T.A. Sashina**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections<sup>3</sup>;

**O.V. Morozova**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections<sup>3</sup>;

**N.A. Novikova**, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology of Viral Infections<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod Regional Children's Hospital, 211 Vaneeva St., Nizhny Novgorod, 603136, Russian Federation;

<sup>3</sup>Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Academician Blokhina, 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

**The aim of the investigation** was improving the effectiveness of microbiological monitoring through optimization and development of the molecular genetic component based on comprehensive long-term assessment of hospital-acquired acute enteric infections of viral etiology.

**Materials and Methods.** In the framework of epidemiological surveillance of nosocomial viral infections, syndrome-based diagnosis of acute enteric infection cases was implemented in a children's hospital. In fact, the patients with the signs of gastrointestinal dysfunctions unrelated to the underlying disease were identified and examined. DNAs (RNAs) of acute enteric infections of viral etiology were detected and differentiated through PCR-based diagnosis. G[P]-typing of rotaviruses was performed by RT-PCR method using various primers. Genotyping of enteric viruses by sequencing method was performed determining the relevant nucleotide sequences of rotavirus, norovirus and astrovirus cDNA segments using genetic analyzer Beckman Coulter. Nucleotide sequences of cDNA segments were analyzed using BLAST programs to identify closely related strains and an online service for automatic genotyping of noroviruses. Alignment of nucleotide sequences and phylogenetic analysis were performed using MEGA software. Sequences of genome segments obtained in this study have been represented in the international GenBank database.

**Results.** There has been developed the molecular genetic component of microbiological monitoring of acute enteric infections of viral etiology, which involves not only diagnosing the enteric pathogens by PCR, but also subsequent genotyping as well as phylogenetic analysis to determine genetic characteristics of pathogens.

**Key words:** epidemiological surveillance; nosocomial infections; acute enteric infections of viral etiology; microbiological monitoring; norovirus; rotavirus; adenovirus; astrovirus.

Актуальность изучения различных аспектов проблемы острых кишечных инфекций (ОКИ) вирусной этиологии определяется широким повсеместным их распространением, полиэтиологичностью, разнообразием путей и факторов передачи, выраженной сезонностью, сохраняющейся тенденцией к росту заболеваемости, принимающей нередко групповой и вспышечный характер, особенно среди детского населения [1–6]. Вспышки ОКИ вирусной этиологии могут регистрироваться также в условиях различных

медицинских учреждений как инфекционного, так и неинфекционного профиля [1, 3, 7, 8]. Такая ситуация требует проведения эффективного эпидемиологического расследования с целью выявления взаимосвязи различных заболеваний, определения источника возбудителя инфекции, путей передачи и, что особенно важно, установления наличия или отсутствия внутрибольничных случаев инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП).

Существующая в России система эпидемиологиче-

ского надзора за ОКИ вирусной этиологии позволяет оценивать эпидемиологическую обстановку, а также научно обосновывать, планировать и корректировать меры контроля. Данная система является открытой и развивающейся структурой, что обеспечивает возможность введения новых параметров и компонентов, тем самым совершенствуя ее. Особенно это актуально в связи с развитием молекулярно-генетических методов исследований.

Существующий молекулярно-биологический компонент микробиологического мониторинга ОКИ вирусной этиологии в полной мере не раскрывает применение различных видов генотипирования, филогенетического анализа для определения генетических характеристик возбудителей и, соответственно, не обеспечивает определения условий возникновения инфекций в медицинском учреждении.

**Цель исследования** — повышение эффективности микробиологического мониторинга путем его оптимизации и разработки молекулярно-генетического компонента на основании комплексного многолетнего наблюдения за внутрибольничными острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии.

**Материалы и методы.** Клинической базой исследования являлась многопрофильная Нижегородская областная детская клиническая больница. На первом этапе работы в рамках эпидемиологического надзора за внутрибольничными инфекциями вирусной этиологии в данном неинфекционном детском стационаре была внедрена синдромальная диагностика случаев ОКИ по разработанному алгоритму, который включал выявление и обследование на широкий спектр возбудителей ОКИ всех пациентов с признаками дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием. Кроме этого, обследовались лица, контактировавшие с пациентами с указанным синдромом или с подтвержденным диагнозом ОКИ. В рамках микробиологического мониторинга осуществляли исследование смывов с объектов окружающей (внешней) среды отделений, где были случаи ОКИ.

На базе проблемной научной лаборатории ПЦР-исследований НИИ профилактической медицины Нижегородской государственной медицинской академии методом ПЦР в режиме реального времени проведено дифференциальное выявление с анализом их ДНК (РНК) ротавирусов группы А, норовирусов, астровирусов, энтеровирусов и аденовирусов группы F с использованием набора «АмплиСенс® ОКИ скрин-FL» (ЦНИИЭМ, Москва). За период 2013–2014 гг. исследовано 178 образцов фекалий и 23 смыва окружающей среды стационара. Выполнено 1038 исследований.

Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией, принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия), и одобрена Этическим комитетом Нижегородской государственной медицинской академии. От родителей пациентов получено информированное согласие.

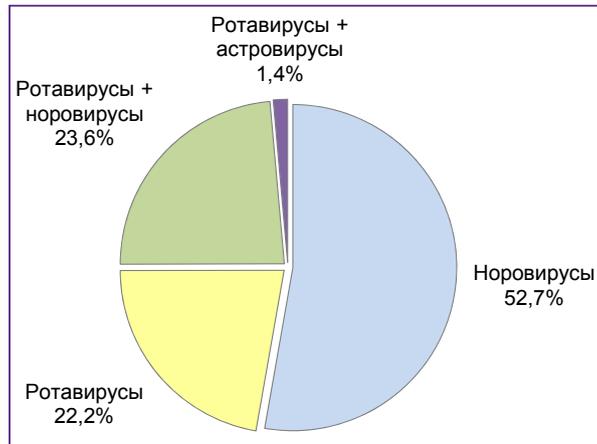
На втором этапе работы выполнено генотипирование 132 обнаруженных возбудителей вирусных ОКИ. Исследование проводили в лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Нижегородского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной (Н. Новгород). G[P]-типирование ротавирусов осуществляли методом ОТ-ПЦР с помощью праймеров для идентификации типов G1, G2, G3, G4, G9 и P[4], P[6], P[8], P[9] [9]. Генотипирование кишечных вирусов методом секвенирования проводили путем определения соответствующих нуклеотидных последовательностей фрагментов кДНК ротавирусов, норовирусов и астровирусов с использованием генетического анализатора Beckman Coulter (Beckman Coulter, США) [10–13]. Анализ нуклеотидных последовательностей выполняли с применением пакета программ BLAST для идентификации близкородственных штаммов и онлайн-сервиса для автоматического генотипирования норовирусов Norovirus Genotyping Tool Version 1.0.

На третьем этапе работы на основе выровненных нуклеотидных последовательностей осуществляли филогенетический анализ с помощью программного обеспечения MEGA. Для сравнения использовали нуклеотидные последовательности генома кишечных вирусов, имеющиеся в международной базе данных GenBank (США). Филограммы были построены методом присоединения соседей (neighbor-joining method) на основе двухпараметрической модели Kimura. Достоверность топологии филограммы оценивали с помощью бутстреп-анализа с использованием 1000 случайных выборок. Полученные в данном исследовании последовательности фрагментов генома представлены в международной базе данных GenBank под номерами KP208780, KP208781 (астровирусы), KP208782–KP208785, KR020053 (норовирусы), KR020054 (ротавирусы). Результаты работы подвергали статистической обработке по общепринятой методике методами вариационной статистики [14].

На завершающем этапе были проведены эпидемиологическая диагностика эпидемической обстановки в детском многопрофильном стационаре на основе данных расследования случаев инфекции, микробиологического мониторинга, включая молекулярно-генетические исследования, и сопоставление полученных результатов с данными эпидемиологического надзора за ОКИ вирусной этиологии на территории региона.

**Результаты и обсуждение.** На первом этапе исследования установлено, что среди обследованных пациентов с синдромом дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием, вирусы кишечной группы обнаружены в 43,8% случаев (95% ДИ 40,1–47,5) [4]. Среди лиц, инфицированных кишечными вирусами, моноинфекция выявлена у 72% пациентов, микст-инфекция — у 28% ( $p=0,007$ ). В вирусных ассоциациях преобладали ро-

Рис. 1. Этиологическая структура острой кишечной инфекции вирусной этиологии у пациентов детского многопрофильного неинфекционного стационара



тавирусная и норовирусная инфекции (92,1%). Таким образом, в условиях детского клинического стационара вирусная ОКИ встречалась почти у каждого второго ребенка, имеющего признаки дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием.

При анализе ОКИ по этиологическому фактору в 2013 г. установлено преобладание норовирусной инфекции — 73,2% (95% ДИ 69,9–76,5) обследованных с моноинфекцией ( $p=0,045$ ). Ротавирусная инфекция занимала второе место, и ее удельный вес составлял 23,2% (95% ДИ 20,0–26,4). Астровирусная и аденовирусная инфекции составляли по 1,8% (95% ДИ 0,9–2,7) случаев (рис. 1).

С целью выявления масштаба контаминации кишечными вирусами помещений клиники проведено исследование объектов буфета, палат для пациентов, медицинского поста, санитарной комнаты и туалетов, входящих в состав одного из отделений стационара. Отобраны смывы с выключателей, ручек дверей, поверхностей столов, тумбочек, кроватей. Кишечные вирусы обнаружены в 47,8% (95% ДИ 37,4–58,2) смывов: 39,1% смывов взяты в больничных палатах и 8,7% — в туалетах. В 39,1% образцов (95% ДИ 24,4–53,8) выявлено наличие моноинфекции: норовирусы составили 26,1%, а ротавирусы — 13,0%. Очевидно, что при наличии устойчивости кишечных вирусов в окружающей среде контаминированные объекты могут явиться одним из постоянно действующих факторов передачи ОКИ в условиях стационара. Данный факт требует коррекции профилактических и противоэпидемических мероприятий, а также осуществления мониторинга окружающей среды стационара на контаминацию вирусами.

На следующем этапе работы был проведен филогенетический анализ установленных нуклеотидных последовательностей фрагментов генома кишечных вирусов.

Генотипирование ротавирусов методами ОТ-ПЦР и секвенирования выявило наличие генотипов G4P[8] в 30,0% и G1P[8] — в 70,0% случаев. В период проведения данного исследования на территории

Н. Новгорода встречались ротавирусы вида А, относящиеся к пяти G-типам (G1, G2, G3, G4, G9) и четырем P-типам (P[4], P[6], P[8], P[9]). Доминирующим был генотип G4P[8] — 40,3%. Данные о циркуляции кишечных вирусов на территории Н. Новгорода позволяют предположить, что случаи регистрации ротавирусов генотипа G4P[8] у пациентов обусловлены неоднократным заносом в стационар.

Ротавирус генотипа G1P[8] выявлен у 70% пациентов стационара. Филогенетический анализ показал инфицирование одним вариантом ротавируса, относящимся к линии G1-I. Гомология составляла 99,9–100% (рис. 2). На территории Н. Новгорода он выявлялся в 12,1% случаев [15], но циркулировали в основном представители линии G1-II. Результаты, полученные в нашем исследовании, свидетельствуют об устойчивой циркуляции во внутрибольничных условиях ротавируса генотипа G1-I.

Таким образом, по данными эпидемиологического расследования случаев инфекций, изучения генетической характеристики возбудителей, а также сопоставления с информацией о циркуляции кишечных вирусов на территории города установлено, что в условиях стационара у пациентов с ротавирусной инфекцией 6 случаев можно классифицировать как занос инфекции, а 14 случаев отнести к ИСМП.

Генотипирование норовирусов выявило преобладание геногруппы GII. На генотипы норовируса GII.1 и GII.4 приходилось по 44,4% (95% ДИ 27,8–61,0), а на GII.3 — 11,1%. Обнаруженные норовирусы генотипа GII.1 были идентичны между собой по исследуемому участку генома и сходны с единственным изолятом норовируса данного генотипа, выявленным в период с 2006 по 2012 г. при sporadicкой заболеваемости на территории Н. Новгорода, а также с норовирусом, вызвавшим вспышку ОКИ в одном из учебных заведений города в сентябре 2012 г. (гомология — 99,9%) [5]. Выявленные в данном исследовании случаи явились результатом внутрибольничной передачи норовирусной инфекции после заноса возбудителя, циркулировавшего на территории.

Норовирусы GII.4 относились к геноварианту

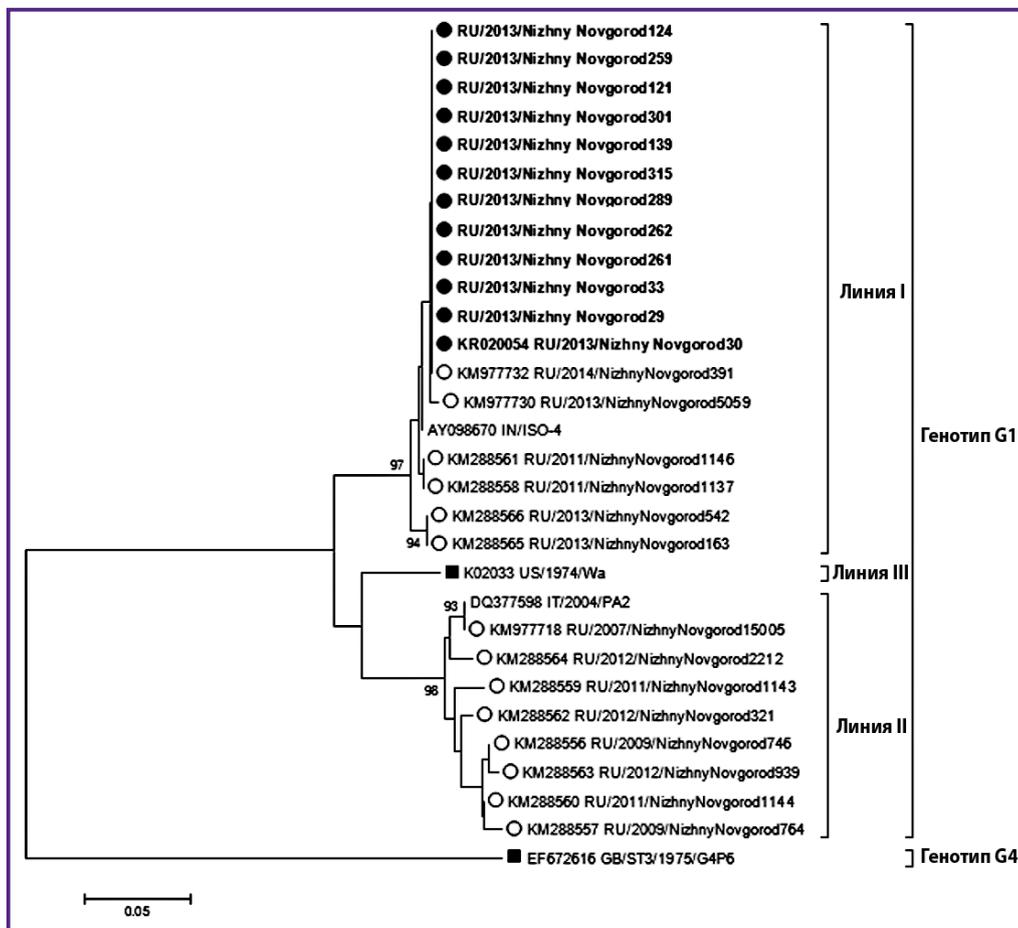


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена VP7 генома ротавирусов:

- — изоляты, выявленные в ходе данного исследования;
  - — изоляты, выявленные в других исследованиях на территории Н. Новгорода;
  - — референсные типовые штаммы ротавирусов генотипов G1 и G4;
- названия стран указаны по двухбуквенному коду ISO-3166-1

*Sydney\_2012*, который был впервые обнаружен в Австралии в марте 2012 г. и в 2012–2013 гг. получил эпидемическое распространение в мире [16]. Однако, относясь к одному геноварианту, выявленные в данной работе изоляты GII.4 *Sydney\_2012* существенно отличались друг от друга по исследуемому участку генома (дивергенция составила 0,7–2,4%) и входили в отдельные кластеры при филогенетическом анализе нуклеотидных последовательностей (рис. 3). В связи с этим анализируемые случаи можно считать результатом независимых заносов норовируса GII.4 в медицинскую организацию, кроме того, требуются дополнительные исследования. Однако нельзя полностью исключить, что наблюдаемая дивергенция явилась результатом циркуляции в закрытом пространстве стационара.

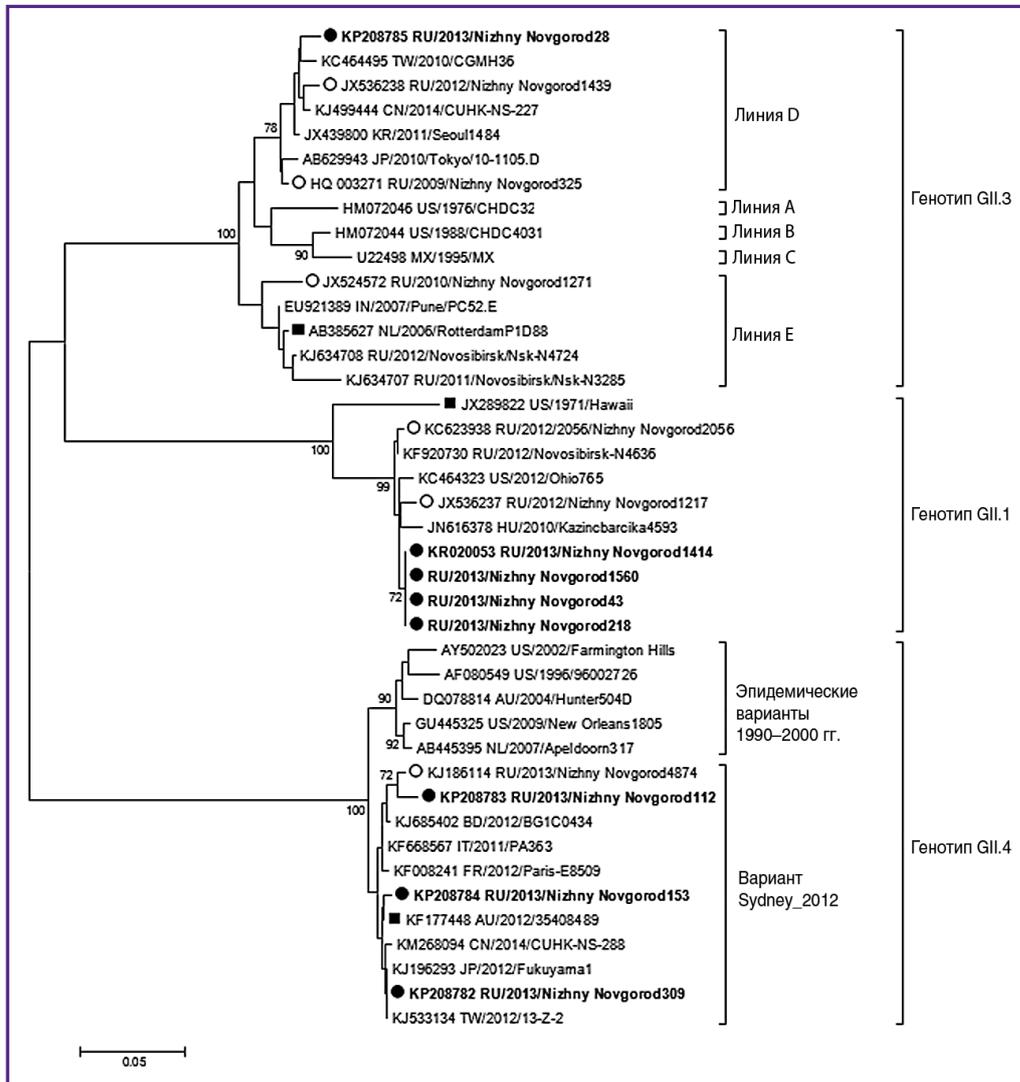
Последовательность норовируса GII.3 при филогенетическом анализе отнесена к линии D по классификации J.E. Mahar с соавт. [17].

При генотипировании астровирусов установле-

но, что один изолят относится к генотипу 1, линии 1a, сублинии 1a-2010. Данный генотип является наиболее распространенным и обладает высоким уровнем генетической гетерогенности [6, 15]. Другой изолят относится к астровирусам генотипа 2, генетической линии 2c, которые характеризуются низкой циркуляцией в мире [6, 18] (рис. 4).

Принадлежность астровирусов, выявленных в двух эпизодах инфекции в стационаре, к различным генотипам в совокупности с данными эпидемиологического расследования позволяет квалифицировать их как случаи независимого заноса в стационар.

Полученные в данном исследовании результаты явились основанием для оптимизации компонентов системы эпидемиологического надзора за кишечными инфекциями вирусной этиологии в РФ, а именно эпидемиологического мониторинга. С учетом внедрения новых молекулярно-генетических технологий при осуществлении научного исследования особое внимание было уделено именно совершенствованию микробио-



**Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена VP1 генома норовирусов:**  
 ● — изоляты, выявленные в ходе данного исследования;  
 ○ — изоляты, выявленные в других исследованиях на территории Н. Новгорода;  
 ■ — референсные типовые штаммы норовирусов разных генотипов GII.1, GII.3, GII.4;  
 названия стран указаны по двухбуквенному коду ISO-3166-1

логического компонента эпидемиологического надзора за ОКИ (рис. 5).

*Эпидемиологический мониторинг*, направленный на эпидемиологическую диагностику ОКИ вирусной этиологии в детском многопрофильном неинфекционном стационаре, по нашему мнению, должен включать следующие компоненты:

1) синдромальную диагностику — выявление и обследование пациентов с признаками дисфункции желудочно-кишечного тракта, не связанной с основным заболеванием, а также контактирующих с ними лиц (другие пациенты, ухаживающие лица, медицинский персонал) по разработанному алгоритму;

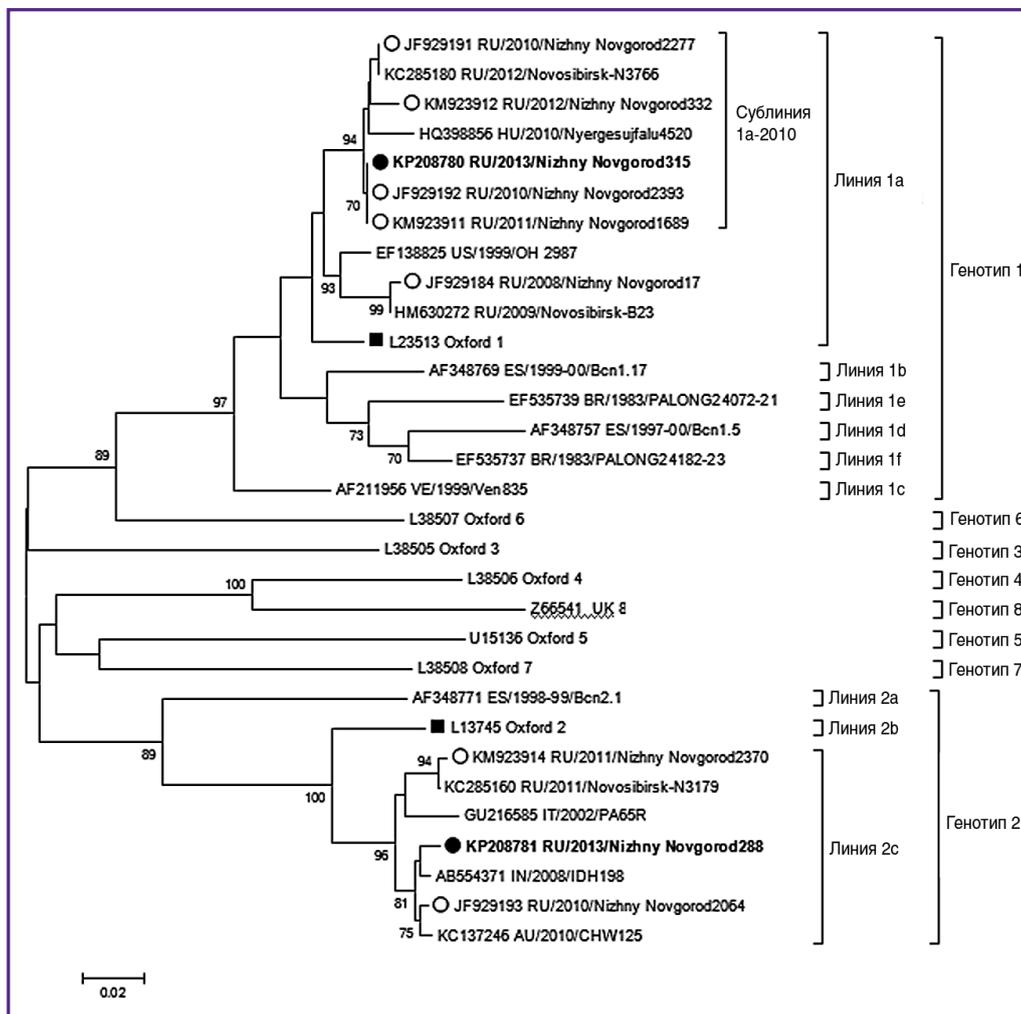
2) оценку заболеваемости и распространенности

ОКИ вирусной этиологии, в том числе и в разрезе этиологии;

3) эпидемиологическое обследование случаев ОКИ в стационаре с анализом условий возникновения инфекции (заносы или ИСМП), причин и условий, способствовавших их возникновению и распространению, а также путей и факторов передачи, контактных лиц;

4) расследование эпидемической ситуации (групповая заболеваемость и вспышки);

5) интерпретацию результатов микробиологического мониторинга, включая молекулярно-биологический компонент, уточнение условий возникновения случаев инфекции (занос или ИСМП), путей и факторов пере-



**Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена — предшественника капсидных белков генома астровирусов:**

- — изоляты, выявленные в ходе данного исследования;
  - — изоляты, выявленные в других исследованиях на территории Н. Новгорода;
  - — референсные типовые штаммы астровирусов генотипов 1 и 2;
- названия стран указаны по двухбуквенному коду ISO-3166-1

дачи возбудителя инфекции, особенностей циркуляции возбудителей в медицинской организации;

6) сопоставление результатов эпидемиологической диагностики с результатами эпидемиологического надзора на территории;

7) постановку эпидемиологического диагноза и планирование мероприятий по контролю распространения ОКИ.

*Молекулярно-генетический компонент микробиологического мониторинга* должен включать обследование пациентов и исследование внешней среды:

- 1) обследование пациентов:
  - выявление и дифференциация РНК (ДНК) кишечных вирусов методом ПЦР в реальном масштабе времени и изучение их циркуляции;
  - генотипирование положительных проб на кишеч-

ные вирусы (G[P]-типирование ротавирусов, секвенирование и другие методы);

— филогенетический анализ (идентификация и прояснение эволюционных взаимоотношений);

— определение условий возникновения инфекции путем сопоставления данных с результатами циркуляции возбудителей на конкретной территории (область, округ и т.д.) с учетом результатов эпидемиологического мониторинга ОКИ в медицинском учреждении;

2) исследование окружающей среды:

— выявление и дифференциация РНК (ДНК) кишечных вирусов методом ПЦР в реальном масштабе времени на различных объектах окружающей среды лечебно-профилактического учреждения.

Конкретные параметры исследования внешней среды в молекулярно-генетическом компоненте ми-



Рис. 5. Оптимизированная система эпидемиологического надзора за острой кишечной инфекцией вирусной этиологии

кробиологического мониторинга должны определяться эпидемиологической обстановкой в медицинском учреждении. Так, исследования внешней среды могут проводиться как в планоном порядке, так и по эпидемическим показаниям, осуществляться в комплексе с бактериологическими исследованиями в рамках производственного контроля или отдельно, быть направленными на конкретные отделения или на помещения и объекты внешней среды. Объем мероприятий, объекты исследования, а также режимы мониторинга выбираются в зависимости от эпидемиологической ситуации в медицинском учреждении.

Результаты исследования внешней среды на контаминацию кишечными вирусами являются основанием для коррекции дезинфекционных мероприятий: выбор вирулицидного режима применения дезинфицирующих средств, определение объектов и помещений для обработки. Кроме того, эти данные необходимы для выявления путей и факторов передачи инфекции.

Использовать результаты ПЦР-исследований внешней среды для контроля качества проведенных дезинфекционных мероприятий следует с осторожностью.

Выполнение исследований по идентификации кишечных вирусов методом ПЦР должно проводиться силами лабораторной службы медицинского учрежде-

ния. Осуществление генотипирования, а также филогенетический анализ и сопоставление результатов необходимо проводить на базе референс-центров (референс-лабораторий) по мониторингу за кишечными инфекциями и ИСМП или других научно-исследовательских организаций.

Таким образом, оптимизация эпидемиологического надзора за вирусными кишечными инфекциями путем модернизации молекулярно-генетического мониторинга позволяет значительно повысить эффективность выявления заболеваемости, контаминации окружающей среды, а также на основании генетических характеристик возбудителей и сопоставления данных о циркуляции кишечных вирусов на территории провести успешную дифференцировку случаев по условиям ее возникновения.

**Заключение.** С целью оптимизации микробиологического мониторинга острых кишечных инфекций разработан молекулярно-генетический компонент вирусной этиологии, включающий в себя не только диагностику кишечных возбудителей методом ПЦР, но и дальнейшее проведение различных видов генотипирования, а также осуществление филогенетического анализа для определения генетических характеристик возбудителей.

**Финансирование исследования и конфликт интересов.** Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

### Литература/References

1. Епифанова Н.В., Новикова Н.А., Ефимов Е.И., Парфенова О.В., Луковникова Л.Б., Фомина С.Г. Молекулярно-генетическая характеристика астровирусов, циркулирующих в Нижнем Новгороде. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии 2012; 6: 32–36. Epifanova N.V., Novikova N.A., Efimov E.I., Parfenova O.V., Lukovnikova L.B., Fomina S.G. Molecular-genetic characteristic of astroviruses circulating in Nizhny Novgorod. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* 2012; 6: 32–36.
2. Епифанова Н.В., Луковникова Л.Б., Новикова Н.А., Парфенова О.В., Фомина С.Г. Эпидемические варианты норовирусов генотипа GII.4 в Нижнем Новгороде в 2006–2012 гг. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии 2014; 2: 64–72. Epifanova N.V., Lukovnikova L.B., Novikova N.A., Parfenova O.V., Fomina S.G. Epidemic variants of norovirus genotype GII.4 in Nizhny Novgorod in 2006–2012. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* 2014; 2: 64–72.
3. Епифанова Н.В., Луковникова Л.Б., Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Зверев В.В., Пономарёва Н.В., Парфенова О.В., Новиков Д.В., Волкова М.А., Новикова Н.А. Этиологическая структура вирусных кишечных инфекций у детей в Нижнем Новгороде. Медицинский альманах 2010; 2(11): 233–236. Epifanova N.V., Lukovnikova L.B., Golitsina L.N., Fomina S.G., Zverev V.V., Ponomareva N.V., Parfenova O.V., Novikov D.V., Volkova M.A., Novikova N.A. Etiological structure of viral intestinal infections in children in Nizhny Novgorod. *Meditsinskiy al'manakh* 2010; 2(11): 233–236.
4. Сергеева А.В., Послова Л.Ю., Ковалишена О.В., Благодравова А.С., Епифанова Н.В., Сашина Т.А., Морозова О.В., Новикова Н.А. Молекулярно-генетический мониторинг острых кишечных инфекций вирусной этиологии в детском многопрофильном стационаре. Инфекция и иммунитет 2015; 5(3): 243–252. Sergeeva A.V., Poslova L.Y., Kovalishena O.V., Blagoravova A.S., Epifanova N.V., Sashina T.A., Morozova O.V., Novikova N.A. Viral etiology acute intestinal infections molecular monitoring in children's hospital. *Infektsiya i immunitet* 2015; 5(3): 243–252.
5. Kageyama T., Kojima S., Shinohara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F.B., Takeda N., Katayama K. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41(4): 1548–1557, <https://doi.org/10.1128/jcm.41.4.1548-1557.2003>.
6. Noel J.S., Lee T.W., Kurtz J.B., Glass R.I., Monroe S.S. Typing of human astroviruses from clinical isolates by enzyme immunoassay and nucleotide sequencing. *J Clin Microbiol* 1995; 33(4): 797–801.
7. Zhirakovskaya E.V., Tikunov A.Y., Kurilshchikov A.M., Tikunova N.V., Aksanova R.K., Sokolov S.N., Netesov S.V., Gorbunova M.G. Genetic diversity of group A rotavirus isolates found in Western Siberia in 2007–2011. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology* 2012; 27(4): 174–183, <https://doi.org/10.3103/s0891416812040076>.
8. Жираковская Е.В., Тикунов А.Ю., Курильщикова А.М.,

Дёмина А.В., Покровская И.В., Шеронова О.Б., Позднякова Л.Л., Нетёсова С.В., Тикунова Н.В. Этиологическая структура острых кишечных инфекций у взрослых в Новосибирске. Инфекционные болезни 2013; 11(2): 31–37. Zhirakovskaya E.V., Tikunov A.Yu., Kurilshchikov A.M., Demina A.V., Pokrovskaya I.V., Sheronova O.B., Pozdnyakova L.L., Netesova S.V., Tikunova N.V. The etiological structure of acute enteric infections in adults in Novosibirsk. *Infektsionnye bolezni* 2013; 11(2): 31–37.

9. Новикова Н.А., Епифанова Н.В., Федорова О.Ф. G[P]-генотипирование ротавирусов с использованием полимеразной цепной реакции. Н. Новгород; 2007. Novikova N.A., Epifanova N.V., Fedorova O.F. *G[P]-genotipirovanie rotavirusov s ispol'zovaniem polimeraznoy tsepnoy reaktsii* [G[P]-genotyping of rotaviruses using the polymerase chain reaction]. Nizhny Novgorod; 2007.

10. Новошконов А.А., Соколова Н.В., Сахарова А.А., Бережкова Т.В. Клиническая эффективность нового энтеросорбента в комплексной терапии острых кишечных инфекций вирусной этиологии у детей. Лечащий врач 2009; 7: 78–81. Novokshonov A.A., Sokolova N.V., Sakharova A.A., Berezhkova T.V. Clinical efficacy of a new enterosorbent in the complex therapy of acute intestinal infections of viral etiology in children. *Lechashchiy vrach* 2009; 7: 78–81.

11. Bull R.A., Tu E.T.V., McIver C.J., Rawlinson W.D., White P.A. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2006; 44(2): 327–333, <https://doi.org/10.1128/jcm.44.2.327-333.2006>.

12. De Grazia S., Platia M.A., Rotolo V., Colomba C., Martella V., Giammanco G.M. Surveillance of human astrovirus circulation in Italy 2002–2005: emergence of lineage 2c strains. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(1): 97–101, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03207.x>.

13. DiStefano D.J., Kraiouchkine N., Mallette L., Maliga M., Kulnis G., Keller P.M., Clark H.F., Shaw A.R. Novel rotavirus VP7 typing assay using a one-step reverse transcriptase PCR protocol and product sequencing and utility of the assay for epidemiological studies and strain characterization, including serotype subgroup analysis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 5876–5880, <https://doi.org/10.1128/jcm.43.12.5876-5880.2005>.

14. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб: ВМедА; 2002; 266 с. Yunkerov V.I., Grigor'ev S.G. *Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovaniy* [Mathematical and statistical processing of data for medical research]. Saint Petersburg: VMedA; 2002; 266 p.

15. Glass R.I., Bresee J., Jiang B., Gentsch J., Ando T., Fankhauser R., Noel J., Parashar U., Rosen B., Monroe S.S. Gastroenteritis viruses: an overview. *Novartis Found Symp* 2001; 238: 5–25, <https://doi.org/10.1002/0470846534.ch2>.

16. Kambhampati A., Koopmans M., Lopman B.A. Burden of norovirus in healthcare facilities and strategies for outbreak control. *J Hosp Infect* 2015; 89(4): 296–301, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.01.011>.

17. Mahar J.E., Bok K., Green K.Y., Kirkwood C.D. The importance of intergenic recombination in norovirus GII.3 evolution. *J Virol* 2013; 87(7): 3687–3698, <https://doi.org/10.1128/jvi.03056-12>.

18. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 2013; 30(12): 2725–2729, <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.