

Кузнецова Ирина Владимировна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ (НА ПРИМЕРЕ МАССОВЫХ
МЕРОПРИЯТИЙ В 2014-2019 ГГ. В Г. СОЧИ)**

1.5.11 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН, доктор
медицинских наук,
профессор

Куличенко Александр Николаевич

Официальные оппоненты:

Чеснокова Маргарита Валентиновна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом научного и учебно-методического обеспечения, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Защита диссертации состоится «__» _____ года в __ часов на заседании диссертационного совета 64.1.006.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук при ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте <http://www.microbe.ru/disser/dissert/> Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб».

Автореферат разослан «__» _____ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Бугоркова Светлана Александровна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования и степень разработанности

Использование комплексного микробиологического анализа штаммов патогенов, установление их филогенетического положения, получение данных о генетических особенностях изолятов и определение фоновых генотипов возбудителей инфекций на конкретных территориях – важное звено в противодействии биологическим угрозам, в том числе в период проведения массовых мероприятий.

В период проведения крупных международных массовых мероприятий повышается угроза возникновения и распространения инфекционных заболеваний. Это подтверждается, например, вспышкой гриппа во время XIX зимних Олимпийских игр 2002 года в Солт-Лейк-Сити [Gundlapalli A., 2006], норовирусной инфекции на чемпионате мира по футболу 2006 года в Мюнхене [Schenkel K., 2006], менингококковой инфекции во время хаджа в Саудовской Аравии [Shafi S., 2008], норовирусной инфекции в период XXIII зимних Олимпийских игр 2018 года в Пхенчхане [KCDC, 2018].

В настоящее время одним из наиболее важных направлений предупреждения и ликвидации вспышек инфекционных заболеваний является применение современных технологий эпидемиологического мониторинга за возбудителями и эффективная диагностика инфекции, основанная на применении современных молекулярно-генетических методов исследования [WHO/EURO, 2007; Abubakar I., 2012; Онищенко Г.Г., 2014; Tabatabaei S.M., 2015; Онищенко Г.Г., 2015].

С целью повышения готовности к возможным осложнениям эпидемиологической ситуации во время важных общественных событий в Российской Федерации привлекаются дополнительные силы и средства, например, специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ) Роспотребнадзора [Онищенко Г.Г., 2014]. В настоящее время накоплен значительный опыт интегрирования СПЭБ в деятельность санитарно-эпидемиологической службы регионов, в том числе с целью проведения микробиологических и молекулярно-генетических исследований. Важно, основываясь на имеющихся данных об особенностях генома, выбрать наиболее результативный метод генетического анализа в условиях работы СПЭБ, применительно к разным видам бактерий и вирусов.

Впервые для участия в обеспечении массового мероприятия СПЭБ была задействована во время форума Азиатско-Тихоокеанского экономического сотрудничества (АТЭС) 2012 года в г. Владивостоке, итоги этой работы представлены в монографии под редакцией Г.Г. Онищенко (2013). Новые организационные и научно-практические подходы санитарно-противоэпидемического обеспечения массового мероприятия с участием СПЭБ были разработаны и реализованы во время Универсиады-2013 в г. Казани и Олимпиады-2014 в г. Сочи, что нашло отражение в коллективных монографиях под редакцией Г.Г. Онищенко и В.В. Кутырева (2013, 2014), под редакцией Г.Г. Онищенко и А.Н. Куличенко (2015), а также в диссертационных работах С.К. Удовиченко (2014), М.И. Пяташиной (2015), В.Г. Орбея (2016), Т.В. Гречаной (2016), О.В. Тушиной (2017).

С учетом полученного в последние несколько лет опыта проводятся исследования, направленные на совершенствование нормативно-методической

базы, материально-технического оснащения, алгоритмов лабораторной диагностики и изучения ПБА, обеспечения безопасности работ в условиях СПЭБ [А.Ю. Попова и др., 2014; Е.В. Найденова и др., 2014; Е.С. Казакова и др., 2014; И.Г. Карнаухов и др., 2016].

В настоящее время в методических документах прописано применение только одного метода генетического анализа, полимеразной цепной реакции (ПЦР), для лабораторной диагностики инфекционных болезней и лабораторного контроля объектов окружающей среды при проведении массовых мероприятий, в том числе при работе СПЭБ [МР 4.2.0079/1—13]. Проведение молекулярного типирования штаммов (изолятов нуклеиновых кислот) возбудителей инфекционных болезней не регламентировано. В связи с этим, разработка и реализация научно обоснованных алгоритмов лабораторной диагностики и генотипирования позволит в целом усовершенствовать лабораторно-диагностическую составляющую работы СПЭБ, изложенную в «Регламенте (стандарте) функционирования специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» (утв. приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 330 от 22.11.2007).

Изучение особенностей выполнения микробиологического анализа в общей структуре санитарно-противоэпидемического обеспечения массовых мероприятий 2014-2019 гг. в г. Сочи дает возможность выделить и проанализировать ключевые направления для выработки предложений по совершенствованию алгоритмов молекулярной диагностики и генотипирования возбудителей инфекций и организации работы лабораторной базы при обеспечении эпидемиологического благополучия в период массовых мероприятий. Данный опыт будет востребован в дальнейшем при организации санитарно-эпидемиологического обеспечения массовых мероприятий, как в России, так и за рубежом. Вышеизложенное определяет актуальность цели и задач данной диссертационной работы.

Цель исследования – разработать и апробировать алгоритм комплексного генетического анализа для выявления и характеристики возбудителей инфекционных болезней на примере работы СПЭБ в период подготовки и проведения крупных массовых мероприятий.

Задачи исследования:

1. Провести молекулярно-генетический мониторинг за циркуляцией на территории г. Сочи штаммов возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций с целью получения информации о характерных для региона генетических вариантах (геномное профилирование ПБА территории) в период подготовки к чемпионату мира по футболу FIFA – 2018.

2. На основе учета особенностей генома штаммов патогенов и существующей методической базы оптимизировать алгоритм генетического анализа для решения эпидемиологических задач.

3. Разработать порядок укомплектования СПЭБ Роспотребнадзора генодиагностическими препаратами для работы в рамках решения задач лабораторной диагностики и генотипирования возбудителей инфекций при проведении массовых мероприятий, основанный на учете существующей методологии анализа ПБА.

4. Определить особенности генома штамма *Shigella sonnei*, выделенного на территории Республики Абхазия, ставшего этиологическим агентом вспышки

дизентерии в декабре 2013 г. на сопредельной с г. Сочи территории в преолимпийский период.

5. Определить особенности структуры генетических лабораторных исследований, выполненных СПЭБ Роспотребнадзора при проведении эпидемиологического надзора и профилактических мероприятий в период крупного массового международного мероприятия (на примере Олимпиады – 2014).

Научная новизна исследования

Впервые выполнено комплексное генотипирование ПБА отдельной территории Российской Федерации, получены данные о генетических особенностях региональных штаммов возбудителей природно-очаговых (хантавирусы, боррелии, риккетсии группы клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ)) и острых кишечных инфекций (*Salmonella* spp., рота-, норо-, астро-, адено- и энтеровирусы), циркулирующих в регионе г. Сочи в заданный период.

Научно обоснован и реализован на практике алгоритм генетической характеристики ПБА, включающий 3 уровня организации исследований: I – детекция (индикация) ПБА методом ПЦР, II – идентификация ключевых участков генома методом ПЦР (определение ключевых свойств ПБА, уточнение таксономического положения), IIIа и IIIб – генотипирование и секвенирование генома ПБА с учетом особенностей конкретного вида (рода) штамма патогена (филогенетический анализ, уточнение особенностей структуры генома).

С использованием предложенного алгоритма генотипирования, основанного на последовательном использовании методов генетического анализа, проведено изучение структурных особенностей генома и филогенетический анализ штамма *S. sonnei*, выделенного при вспышке острой кишечной инфекции (ОКИ) в г. Ткуарчал Республики Абхазия в ноябре 2013 г., выявлены фрагменты плазмид pBS 512 *S. boydii* и pO26-Vir *E. coli* H30, обусловившие особенности штамма.

Теоретическая и практическая значимость. Геномное профилирование ПБА территории г. Сочи позволяет, определив генетические характеристики возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций, получить данные, которые могут быть использованы при прогнозировании возникновения возможных случаев данных инфекционных болезней.

Предложены основанные на методологии генотипирования различных возбудителей инфекций алгоритмы лабораторного анализа и принципы формирования диагностической базы СПЭБ Роспотребнадзора, реализованные при участии в санитарно-противоэпидемическом обеспечении в периоды подготовки и проведения массовых мероприятий, проходивших в г. Сочи в 2014-2019 гг. (Олимпиада – 2014, Кубок конфедераций FIFA – 2017, XIX Всемирный фестиваль молодежи и студентов – 2017, чемпионат мира по футболу FIFA – 2018, саммит Россия-Африка – 2019).

С участием автора диссертации были подготовлены следующие документы:

- «Порядок лабораторного обеспечения диагностики инфекционных болезней в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в г. Сочи» (утвержден Руководителем Роспотребнадзора 08.09.2013);

- «Порядок лабораторного обеспечения исследований проб окружающей среды в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи» (утвержден Руководителем Роспотребнадзора 08.09.2013);

- методическое пособие «Организация и порядок лабораторной диагностики инфекционных болезней в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи», Ставрополь, 2014 г.;

В NCBI Genbank депонирована нуклеотидная последовательность полного генома штамма *S. sonnei* под номером SAMN09245989.

Научные и практически значимые результаты работы используются в лекционном материале для слушателей курсов повышения квалификации по «Программе подготовки личного состава специализированных противозидемических бригад для работы в чрезвычайных ситуациях», проводимых в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Полученные комплексные данные о генетических профилях возбудителей природно-очаговых (хантавирусы, боррелии, риккетсии группы КПЛ) и острых кишечных инфекций (*Salmonella* spp., рота-, норо-, астро-, адено- и энтеровирусы) региона (г. Сочи) могут быть использованы при оперативном эпидемиологическом анализе вспышек (случаев) инфекций с целью определения источника и путей распространения инфекционного патогена.

2. Алгоритм генетической характеристики ПБА, включающий три уровня исследований: I – детекция (индикация) ПБА методом ПЦР, II – идентификация ключевых участков генома методом ПЦР, IIIa и IIIb – генотипирование и секвенирование генома ПБА с учетом особенностей конкретного вида (рода) штамма патогена, позволяет оптимизировать порядок генетического анализа штаммов патогенов (изолятов нуклеиновых кислот) и должен учитываться при организации работы лабораторной базы для решения задач санитарной охраны территории, в том числе при проведении массовых мероприятий.

3. На основании углубленного микробиологического исследования с применением последовательного алгоритма генетического анализа ПБА определены структурные особенности генома штамма *S. sonnei* (ST-152), вызвавшего крупную вспышку ОКИ на приграничной с г. Сочи территории в предолимпийский период, методом полногеномного секвенирования выявлены фрагменты плазмид pBS 512 *S. boydii* и pO26-Vir *E. coli* H30, обусловившие эпидемиологическую значимость штамма.

Степень достоверности и апробация результатов. Результаты диссертационной работы получены с использованием современного поверенного оборудования, микробиологических, генетических, эпидемиологических методов исследования с последующей компьютерной статистической обработкой данных с применением программного обеспечения Microsoft Office 2016, Microsoft Excel 2016.

Материалы диссертационной работы были представлены на региональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в Причерноморском регионе» (24-25 сентября 2013 г., г. Ставрополь), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» (2-5 ноября 2015 г., г. Сочи), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (5-6 апреля 2017 г., г. Ставрополь), X Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора

«Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (24–26 октября 2018 г., г. Москва), итоговых научно-практических конференциях ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (2015-2019 гг.).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликованы 2 коллективные монографии и 18 научных работ, из них 10 в периодических изданиях, рекомендованных «Перечнем ... ВАК РФ».

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах компьютерного текста, содержит 17 таблиц и 11 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, включающих описание материалов и методов исследований и экспериментальную часть, заключения, выводов. Список литературы содержит 210 источников, из них: 101 – отечественный и 109 – зарубежных.

Личный вклад соискателя. Материалы, использованные в диссертации, получены лично автором при участии в подготовке и работе СПЭБ Роспотребнадзора во время массовых мероприятий, проходивших в г. Сочи в 2014-2019 гг., а также в результате ретроспективного анализа этой деятельности. Отдельные результаты получены совместно со специалистами СПЭБ С.А. Портенко (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора), Д.В. Ефременко и А.С. Волынкиной (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора) и территориальных отделов Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Краснодарскому краю В.Г. Оробеем (г. Сочи) и О.В. Тушиной (г. Геленджик).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Материалы и методы исследований

Основными методами исследования были микробиологические, в том числе молекулярно-генетические, комплексный эпидемиологический и статистический.

В процессе работы с применением молекулярно-генетических методов исследовано 3673 пробы клинического материала и из объектов окружающей среды.

Генетическое типирование выделенного штамма *S. sonnei* осуществляли методом MLST по протоколу, описанному Т. Wirth (2006).

Для генотипирования изолятов хантавирусов использовали метод прямого секвенирования фрагмента L-сегмента генома, изолятов возбудителя иксодового клещевого боррелиоза – метод мультилокусного сиквенс-типирования, изолятов *Rickettsia* spp. – прямое секвенирование нуклеотидных последовательностей фрагментов генов *atrA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*.

Генетическую идентификацию изолятов нуклеиновых кислот ротавирусов осуществляли методом P[G] типирования с использованием специфических TaqMan зондов. Субвидовую характеристику изолятов нуклеиновых кислот (НК) норовирусов GI и GII проводили методом прямого секвенирования фрагментов генов полимеразы и нуклеокапсида вируса.

Генотипирование изолятов РНК энтеровирусов и астровирусов осуществляли методом прямого секвенирования участков гена VP1и ORF2 соответственно.

Генетическое типирование штаммов *S. enterica* (серотип *Enteritidis*) осуществляли методом MLVA по 5 локусам в соответствии с протоколом, разработанным К. Hopkins (2011).

Генотипирование выделенных штаммов легионелл выполняли с помощью метода мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) по протоколу Европейской исследовательской группы по легионеллёзу (ESGLI) Sequence-Based Typing protocol for epidemiological typing of *Legionella pneumophila*, version 5.0.

Полногеномное секвенирование выполняли на генетическом анализаторе модели «Ion Torrent Personal Genome Machine» («Life technologies», США) с использованием соответствующих фрагментных библиотек (shot-gun). Выделение ДНК штамма для получения геномных библиотек проводили с применением набора для выделения геномной ДНК бактерий «Charge Switchg DNA Mini Bacteria Kit» («Invitrogen», США). Визуализацию библиотеки фрагментов нуклеиновых кислот осуществляли с использованием программного обеспечения «Exregion Software» («Bio-Rad», США), оценку качества данных секвенирования проводили с помощью программы «FastQC» версия 0.11.3, фильтрацию ридов выполняли в программе «Trimmomatic» версия 0.33, для сборки генома использовалось программное обеспечение «GS De Novo Assembler v. 3.0» («Roche», США), программа «HTSeq-count v. 0.6.1» использовалась для подсчета чтений, картированных на кодирующие участки генома, для определения качества сборки и сравнительного анализа генома использовали программное обеспечение «Quast 5.0». Аннотацию генома осуществляли с помощью программного обеспечения «PROKKA» и сервера для аннотации бактериальных геномов «NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline».

Использование описательно-оценочного и ретроспективного методов эпидемиологического анализа позволило выявить представляющие наибольшую эпидемиологическую опасность инфекционные болезни, определить риски их заноса и распространения на территории проведения массовых мероприятий.

В качестве источников информации использованы официальные данные Всемирной организации здравоохранения, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», Министерства здравоохранения Республики Абхазия за 2009-2013 гг. В работе использованы отчетные документы по итогам деятельности СПЭБ Роспотребнадзора при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период Олимпиады – 2014, Кубка конфедераций FIFA – 2017, XIX Всемирного фестиваля молодежи и студентов – 2017, чемпионата мира по футболу FIFA – 2018 и Саммита Россия-Африка – 2019.

Определение причины и условий возникновения вспышки шигеллёза в г. Ткуарчал Республики Абхазия в ноябре 2013 г. проводили на основе оперативного эпидемиологического анализа.

Статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами, с использованием системы электронных таблиц Microsoft Excel 2016. Для относительной характеристики равномерности распределения нагрузки на лаборатории по различным направлениям деятельности определяли среднее арифметическое, моду и медиану [Савилов Е. Д. с соавт., 2004]. Текстовый и графический материал оформлен на персональном компьютере под управлением операционной системы MS Microsoft XP Professional и офисного пакета MS Office 2016.

2. Генетический мониторинг за возбудителями инфекционных болезней на территории г. Сочи в период подготовки к массовым мероприятиям.

В период подготовки к проведению чемпионата мира FIFA – 2018 на территории г. Сочи для решения задач обеспечения биологической безопасности был применен следующий алгоритм работы:

1) накоплены сведения о генетическом разнообразии и распространении в мире в этот период актуальных инфекций, а также патогенов, завоз которых возможен на данную территорию;

2) проведен молекулярно-генетический мониторинг за циркуляцией в г. Сочи штаммов возбудителей инфекций с целью получения информации о характерных для региона генетических вариантах (геномное профилирование), создание пополняемых баз данных;

3) обеспечена готовность к генетическому типированию патогенов для оперативного анализа при эпидемиологическом расследовании единичных и групповых случаев инфекционных заболеваний.

В результате были выявлены основные «местные» эпидемиологические риски – это наличие активных природных очагов инфекций и ведущая роль острых кишечных инфекции в структуре инфекционной заболеваемости.

В работе представлены данные о геномном профилировании изолятов нуклеиновых кислот, полученных в г. Сочи в 2015-2017 гг.

При ПЦР-исследовании на наличие РНК хантавируса 290 проб суспензий легкого грызунов и мелких млекопитающих выявлено 3 положительные пробы, установлено, что в исследуемых образцах содержатся варианты, относящиеся к хантавирусам двух видов «Добрава/Белград» и «Адлер». Выявленные генетические варианты хантавирусов характерны для территории г. Сочи, хантавирусы «Добрава/Белград» генотипа «Сочи» определяются в данном регионе с 2001 г., хантавирус «Адлер» был впервые идентифицирован в 2008 г.

С целью выявления маркеров возбудителя иксодового клещевого боррелиоза методом ПЦР исследовано 30 пулов иксодовых клещей, в 7 обнаружена РНК возбудителя. При генетическом типировании 4 изолятов НК возбудителя боррелиоза определена нуклеотидная последовательность фрагментов 8 консервативных генов «домашнего хозяйства»: *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *purG*, *recG*, *rplB*, *uvrA*. В результате определено, что исследуемые изоляты принадлежали к двум видам боррелий: *B. garinii* и *B. lusitaniae*, выявлены новые аллельные варианты MLST локусов *clpA*, *rplB*, *uvrA* и 3 новых сиквенса-типа боррелий, не представленных в базе данных Borrelia MLST Databases (<http://pubmlst.org/borrelia/>). Популяция боррелий группы *B. burgdorferii s.l.* в регионе г. Сочи является частью европейской популяции данного возбудителя, о чем свидетельствует генетическое родство выявленных изолятов со штаммами из стран Европы, а также циркуляция в данном регионе *B. lusitaniae* – эндемичного вида боррелий для европейских стран.

При исследовании 32 проб сывороток крови людей и 30 пулов клещей изоляты нуклеиновых кислот *Rickettsia* spp. идентифицированы в 2 пробах клинического материала и 5 суспензий клещей. В результате методом MLST определены нуклеотидные последовательности 4 генов (*atpA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*). Сравнение секвенированных последовательностей с данными базы GenBank с использованием алгоритма BLAST показало идентичность изолятов из клинических образцов с ДНК *R. conorii*, а клещевых изолятов – с *R. helvetica*. Этот вид риккетсий был выделен ранее из клещей *I. ricinus* и *Dermacentor reticulatus*, на территории стран Европы: Франции – 1997 г., Хорватии – 2007 г., Швеции – 2006 г. [Nilsson K., 2006.; Fournier P., 2000; Dobec M., 2009], *R. conorii* широко

распространена и встречается в странах Средиземноморья, Индии, Пакистане, России, Грузии, Израиле, Эфиопии, Кении, Южной Африке, Марокко и в Украине.

С целью выявления генетических особенностей возбудителей кишечных инфекций, циркулирующих на территории г. Сочи в 2015–2017 гг., проводили молекулярно-генетический анализ штаммов и изолятов НК патогенов, выявленных в образцах клинического материала – исследовано 630 проб фекалий от больных с диагнозом «острая кишечная инфекция», возбудители ОКИ или/и их маркеры были определены в 223 пробах.

Установлено, что идентифицированные варианты ротавирусов принадлежат к 7 генотипам G9[P]8, G4[P]8, G9[P]6, G4[P]6, G2[P]4, G1[P]8, G3[P]8. Соотношение генетических вариантов ротавирусов в популяции г. Сочи в 2015–2017 гг. отличалось от других регионов РФ, на исследуемой территории преобладали генотипы G9[P]8 и G4[P]8, а в России доминировал генотип ротавирусов G1[P]8.

Среди норовирусов II генотипа в регионе г. Сочи определено 4 генетических варианта: GII.P17-GII.17; GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012; GII.Pe–GII.4 Sydney_2012; GII.P21-GII.3. Генетические варианты норовирусов GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012 и GII.Pe–GII.4 Sydney_2012, выявленные на исследуемой территории, являются доминирующими в мире с 1990 г. и обладают наибольшим эпидемическим потенциалом. Штаммы с генотипом GII.P17-GII.17 в течение последних 30 лет выявлялись в мире спорадически, а с зимы 2014–2015 гг. широко распространились в странах Азии с вытеснением ранее доминировавшего генотипа GII.4 Sydney_2012.

Единичные случаи заболевания ОКИ были вызваны *S. enterica* с идентичным MLVA-профилем 3-10-5-4-1, астровирусами генотипов HАstV-4 и HАstV-1 и энтеровирусами генотипов Коксаки А4 и Коксаки А19.

В результате проведенной работы впервые осуществлена комплексная молекулярно-генетическая характеристика изолятов НК возбудителей острых кишечных и природно-очаговых инфекций, циркулирующих в регионе г. Сочи. На основании результатов генетической идентификации исследуемых изолятов проведена оценка их эпидемиологической значимости и определены особенности региональных популяций возбудителей, что позволило создать базу генетических профилей возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций, циркулирующих на данной территории в этот период, для эпидемиологического анализа возможных вспышек заболеваний людей при проведении чемпионата мира по футболу FIFA-2018 г. Сочи.

3. Алгоритм генетической характеристики ПБА в условиях работы СПЭБ Роспотребнадзора

В системе реагирования на эпидемиологические угрозы особое значение имеет комплекс организационных и диагностических мероприятий, направленных на раннее выявление возбудителя инфекции и принятие адекватных мер в случае возможных осложнений эпидемиологической ситуации. При этом обоснованно используются оптимизированные схемы лабораторной диагностики с приоритетным применением метода ПЦР в реальном времени, обладающим высокими показателями диагностической чувствительности и специфичности, и, при необходимости, возможностью анализа патогена на молекулярно-генетическом уровне. Возможности методов генетического анализа (ПЦР, методик генотипирования) предполагают наличие алгоритма их комплексного или

последовательного использования, исходя из решаемых задач. В первую очередь порядок последовательного использования методов генетического анализа представляет актуальность для работы диагностических лабораторий СПЭБ Роспотребнадзора, которые привлекается с целью усиления лабораторной сети региона, а так же Центров индикации возбудителей инфекционных болезней I-II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности.

В период подготовки к проведению массовых мероприятий с целью формирования диагностической базы, включающей лабораторное оборудование, диагностические наборы и расходные материалы, использован следующий порядок, основанный на последовательном определении перечня актуальных патогенов и схемы анализа для каждого вида возбудителя. Лабораторные исследования проводятся в соответствии с многофакторным трехуровневым алгоритмом генетического анализа, адаптированным для ПБА бактериальной и вирусной природы и позволяющим обеспечить их оперативное выявление и характеристику.

Проведение генетического анализа по I уровню предполагает детекцию (индикацию) возбудителя методом ПЦР. Исследования проводятся при осуществлении планового мониторинга объектов окружающей среды, а также при скрининговом обследовании на наличие возбудителей инфекций различных клиентских групп. В случае обнаружения патогена, при необходимости (в зависимости от поставленных задач), положительные пробы передаются для дальнейшего изучения ПБА в соответствии со II и (или) III уровнями.

При всем многообразии методик, применяемых для генотипирования штаммов патогенов, отсутствует унифицированный подход для их выбора и использования в эпидемиологических целях.

На основании проведенной по ключевым параметрам сравнительной характеристики методы генетического анализа, наиболее часто применяемые при решении эпидемиологических задач, разделены на 3 группы:

- методы определения специфичных участков генома штамма патогена;
- MLVA, MLST, SNP, фрагментарное секвенирование по Сэнгеру и др.;
- полногеномное секвенирование.

Предлагается применять в работе СПЭБ основанный на особенностях генома патогенов следующий структурированный подход (алгоритм) использования методов генетического анализа для характеристики возбудителей инфекций и решения эпидемиологических задач в зависимости от конкретного патогена и целей исследования:

1) идентификационная ПЦР – определение специфичных участков генома штамма патогена, которые обеспечивают внутривидовую дифференциацию ПБА, определение его эпидемиологической значимости на генетическом уровне;

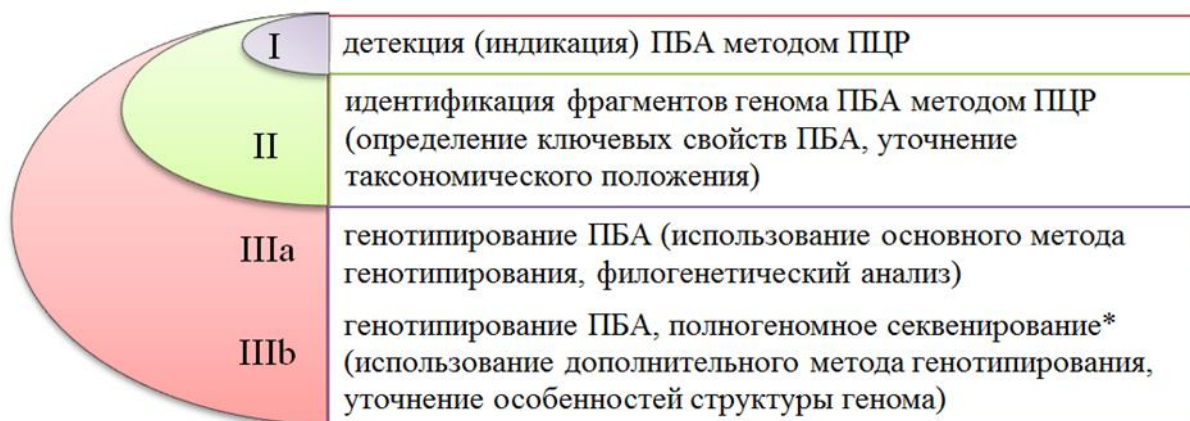
2) основной метод генотипирования – применяется один из методов (MLVA, MLST, SNP-типирование, фрагментарное секвенирование по Сэнгеру и др.) для выявления особенностей структурной организации участков генома ПБА, различий между отдельными штаммами, определения их принадлежности к внутривидовой группе или природному очагу;

3) дополнительный метод генотипирования – применяется второй уточняющий метод (MLVA, MLST, SNP-типирование, фрагментарное секвенирование по Сэнгеру и др.) или проводится полногеномное секвенирование для более глубокого изучения генома.

Генотипирование ПБА с целью установления его филогенетического положения и уточнения особенностей структуры генома (III уровень генетического анализа) осуществляется при необходимости решения следующих задач:

- уточнение таксономического положения штамма;
- определение пространственного и временного происхождения штамма;
- расследование генеза вспышки, установление источника инфекции, возможных маршрутов заноса и т.д.;
- выявление генетически модифицированных штаммов.

Выбор основного и дополнительного метода генотипирования определяется с учетом наличия методической базы для каждого патогена. Вопрос об обособленном или комбинированном использовании идентификационной ПЦР, основного и дополнительного методов генетического типирования решается в зависимости от изучаемого патогена и конкретной ситуации (рисунок 1).



* Выполняется в условиях стационарной лаборатории

Рисунок 1 – Алгоритм генетической характеристики ПБА

Например, в результате анализа эпидемиологических рисков, с учетом особенностей массового мероприятия, в период подготовки к проведению Олимпиады-2014, был определен перечень актуальных инфекций, в соответствии с которым СПЭБ была оснащена диагностическими препаратами, позволяющими проводить исследования по I уровню на наличие 82 различных патогенов.

Для выполнения анализов по II и III уровню в условиях работы СПЭБ на подготовительном этапе был определен перечень патогенов, представляющих наибольшие эпидемиологические угрозы, для каждого вида возбудителя выбрана методика генотипирования и синтезированы праймеры. Список ПБА и методики генотипирования представлены в разделе 4.

С целью проведения генетических исследований в условиях работы СПЭБ применяли технологию микрокапиллярного электрофореза (станция Exregion System, «Bio-Rad», США), позволяющую не использовать для ПЦР флуоресцентно-меченые праймеры, в автоматическом режиме выполнять электрофоретическое разделение продуктов амплификации и обеспечить высокую точность при определении размера ампликонов, а так же фрагментарное секвенирование (анализатор ABI PRISM 3500, «Applied Biosystems», США). На случай обнаружения возбудителя ООИ бактериальной природы в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора была обеспечена готовность к проведению высокопроизводительного (полногеномного) секвенирования.

В результате разработан и применен на практике порядок формирования

диагностической базы СПЭБ Роспотребнадзора, основанный на структурированном алгоритме индикации, идентификации и выборе методов генетической характеристики ПБА.

4. Опыт практического использования алгоритма генетической характеристики ПБА в условиях работы СПЭБ Роспотребнадзора

При проведении эпидемиологических расследований ЧС инфекционного генеза важно определить источник инфекции, установить происхождение штамма патогена и его способность к эпидемическому распространению. Современные технологии молекулярно-генетического анализа позволяют решить эти задачи.

В результате анализа эпидемиологических рисков на подготовительном этапе был составлен перечень возбудителей актуальных инфекций, определены уровни исследований для каждого из них и выбраны методики генотипирования для ряда патогенов (таблица 1).

Таблица 1 - Использование молекулярно-генетических методов для характеристики патогенов, представляющих наибольшую эпидемиологическую опасность в период подготовки и проведения массовых международных мероприятий

I уровень	II уровень	IIIa уровень	IIIb уровень
Возбудители острых кишечных инфекций			
<i>Salmonella</i> spp.	<i>S. typhi</i>	MLVA	Пульс-гель электрофорез *
<i>E. coli</i>	ЕНЕС, ЕТЕС, ЕРЕС, ЕІЕС, ЕАgЕС	MLVA	Пульс-гель электрофорез *
<i>Shigella</i> spp.	-	MLST	WGS
<i>Vibrio cholerae</i>	Определение эпидемической значимости, серогруппы, биовара (гены <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> , <i>wbeT</i> , <i>wbfR</i>)	MLVA	Пульс-гель электрофорез *
<i>Adenovirus</i> , <i>Rotavirus</i> , <i>Norovirus</i> , <i>Astrovirus</i> , <i>Enterovirus</i>	-	Фрагментное секвенирование	WGS
Возбудители респираторных заболеваний			
Вирус гриппа	Вирус гриппа А вирус гриппа В А/Н1-swine А/Н5N1 А/Н5,Н7,Н9 А/Н1N1 А/Н3N2	Фрагментное секвенирование	WGS
<i>Coronaviridae</i>	MERS-Cov SARS-Cov	Фрагментное секвенирование	WGS
<i>Legionella pneumophila</i>	-	MLST	WGS

I уровень	II уровень	IIIa уровень	IIIb уровень
Возбудители ПОИ и ООИ (потенциальные агенты биологического терроризма)			
<i>Yersinia pestis</i>	Определение вирулентности, принадлежности к подвидам и биоварам (гены <i>pla</i> , <i>caf1</i> , <i>lcrV</i> , <i>hmsH</i> , <i>irp2</i> и др.)	MLVA-12	MLVA-25, DFR, WGS
<i>Brucella</i> spp.	Определение вида, биовара	MLVA-16	SNP-анализ, WGS
<i>Francisella tularensis</i>	Определение подвида	MLVA-5	MLVA-25, SNP-анализ, WGS
<i>Bacillus anthracis</i>	Определение вирулентности (гены плазмид pXO1, pXO2)	canSNP-анализ, MLVA	SNP-анализ, WGS, SNR-анализ,
Вирус лихорадки Западного Нила	-	Фрагментное секвенирование	WGS
Вирус Крым-Конго геморрагической лихорадки	-	Фрагментное секвенирование	WGS
Хантавирусы	-	Фрагментное секвенирование	WGS

* при наличии оборудования

При выборе методик генетического типирования учитывали доступность и дифференцирующую способность метода, наличие доступных баз данных, содержащих информацию о генотипах патогена, скорость выполнения анализа. В итоге для характеристики штаммов возбудителей бактериальных ООИ в качестве основного выбран метод MLVA, для *L. pneumophila* и *Shigella* spp. – MLST, для возбудителей вирусных инфекций – секвенирование фрагментов генома по Сэнгеру. Также были определены алгоритмы филогенетического анализа результатов генотипирования. Исследование возбудителей ОКИ бактериальной этиологии планировалось осуществлять с применением идентификационного ПЦР – анализа для определения наличия специфических участков генома. В случае обнаружения возбудителя ООИ бактериальной природы выделенные культуры и образцы ДНК должны были передаваться в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора для проведения полногеномного секвенирования (дополнительный метод генотипирования).

Всего за период работы СПЭБ во время Олимпиады – 2014 методом ПЦР (I уровень генетического анализа) исследовано 1716 проб (11747 анализов), проведено генетическое типирование с применением идентификационной ПЦР, основного и дополнительного методов (в соответствии со II и III уровнями генетического анализа) 28 изолятов нуклеиновых кислот возбудителей инфекционных болезней, из них 9 штаммов *L. pneumophila* (семь штаммов серогруппы 1 и два – серогрупп 2-14), 7 – *Staphylococcus aureus* (6 штаммов выделены от людей, 1 из продуктов питания), 4 – *Escherichia coli* (все из продуктов питания), 1 участок генома вируса гриппа А субтипа H1-swine и 7 - *Y. enterocolitica*.

В результате выполненных исследований с помощью метода MLST и филогенетического анализа показано генетическое разнообразие штаммов

легионелл, циркулирующих в г. Сочи, что позволило повысить готовность к эпидемиологическому расследованию возможных случаев заболевания легионеллёзом во время массовых мероприятий и других событий.

Методом идентификационной ПЦР определена эпидемиологическая значимость изолятов стафилококка, кишечной палочки и проб, содержащих ДНК *Y. enterocolitica* переданных из бактериологической лаборатории СПЭБ.

Проведено секвенирование (по Сэнгеру) и филогенетический анализ фрагментов генома вируса гриппа А субтипа H1-swine, выявленного в материале от больного, прибывшего из страны Африканского континента. Была определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена NA (нейраминидазы) размером 393 п.н., тогда как ген NA (гемагглютинина) секвенировать не удалось. Полученные результаты проанализировали с использованием алгоритма nBLAST (NCBI). Для кластерного анализа использовали программу MEGA 5.0. Сравнение проводили с, представленными в GeneBank, последовательностями гена NA 99 штаммов гриппа А H1N1 swine 2009, циркулировавших в 2011-2013 гг. в США (63 штамма), России (12), Японии (10), Европе (8) и Китае (6).

На основании проведенного филогенетического анализа установлено, что исследуемый образец входил в одну группу со штаммами A/Indiana/167/2012(H1N1) (наиболее близкий штамм), A/Delaware/05/2010 (H1N1), A/NorthDakota/05/2011, выявленными в США в 2010-2012 гг. и генетически не однороден с российскими штаммами, что позволило судить о вероятном заносе возбудителя с другой территории.

За время работы специалистов СПЭБ в период Кубка конфедераций FIFA – 2017 методом ПЦР исследовано 148 проб (1024 анализа): из них декретированный контингент – 136 проб (952 исследования), лица с клиническими проявлениями ОКИ – 8 проб (56 исследований); клещи, снятые с людей - 4 пробы (16 исследований). В результате в 2 пробах клинического материала обнаружена ДНК *Shigella* spp., в 4 – РНК ротавируса группы А, в 14 – РНК норовируса 2 генотипа. Из 4 проб клещей в одной пробе обнаружена РНК *Borrelia burgdorferi sensu lato* и ДНК *Anaplasma phagocytophilum*, в одной – РНК *B. burgdorferi* s.l.

В период подготовки и проведения XIX Всемирного фестиваля молодежи и студентов – 2017, на основании эпидемических показаний по I уровню генетического анализа поступило 74 пробы клинического материала от 26 человек (282 исследования), из них на наличие нуклеиновых кислот рота-, норо-, астро-, аденовирусов, *Shigella* spp., ЕИЕС, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., энтеровирусов – 11, ООИ (чума - 11, сибирская язва - 1, туляремия - 1) – 13, гриппа А/гриппа В – 15, вирусных лихорадок (Зика, денге, Чикунгунья, Эбола, ЛЗН, КГЛ) – 25 и коронавирусов SARS-Cov и MERS-Cov – 10. В результате в 1 пробе крови обнаружена РНК вируса денге и в 1 пробе фекалий – РНК энтеровируса.

Проба клинического материала, в которой выявлена РНК вируса денге, исследовалась в соответствии со II и III уровнями генетического анализа. Проведена идентификация фрагментов генома методом ПЦР - выявлены маркеры вируса денге 1 типа. Дальнейшее генетическое типирование (III уровень генетического анализа) проводили на основе анализа нуклеотидной последовательности участка гена *CprM* размером 435 п.н. В результате установлена принадлежность исследуемого изолята к генотипу V в пределах серотипа 1. Генотип V имеет широкое распространение в мире, но преобладает в Индии. Сравнение секвенированной нуклеотидной последовательности с

последовательностями из базы данных (ViPR) показало, что исследуемый изолят наиболее близок к изоляту Dengue virus 1 isolate D1/IND/PUNE/IRSHA-06, выделенному в Индии в 2016 г.

В период работы на чемпионате мира по футболу FIFA – 2018 в г. Сочи методом ПЦР (I уровень генетического анализа) исследовано 363 пробы (3823 исследования) клинического материала, из них на наличие нуклеиновых кислот рота-, норо-, астро-, аденовирусов, *Shigella* spp., энтероинвазивных *E. coli* (EIEC), *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., энтеровирусов – 313, возбудителей особо опасных инфекций (бруцеллез – 1, холера – 1) – 2, гриппа А/гриппа В – 3, вирусных лихорадок (Зика, денге, желтая лихорадка ЛЗН, КГЛ) – 42, коронавирусов SARS-Cov и MERS-Cov – 1, *L. pneumophila* – 2.

В результате в 1 пробе обнаружена ДНК *Shigella* spp., в 6 - *Salmonella* spp., в 7 - *Campylobacter* spp., в 3 – РНК *Rotavirus* А, в 4 - *Norovirus* 2 генотипа, в 3 - *Astrovirus* и в 1 *Influenza virus* А. При проведении эпидемиологического расследования выявлено, что один из больных, в клиническом материале от которого обнаружена РНК норовируса, прибыл из республики Панама.

Данная проба исследовалась в соответствии с III уровнем генетического анализа. В результате расшифрована нуклеотидная последовательность фрагмента белка нуклеокапсида размером 227 п.н. Сравнение секвенированной последовательности с данными GeneBank и NoroNET позволило определить принадлежность выявленного РНК-изолята норовируса к генотипу GII.4_Sydney_2012.

Генотип GII.4 с 1990 г. является доминирующим в мире и обладает наибольшим эпидемическим потенциалом, на его долю приходится более 80 % всех вспышек норовирусной инфекции. Генетический вариант GII.4_Sydney_2012, выявленный в исследуемом образце, впервые был обнаружен в конце 2012 г. в Австралии, затем получил распространение во многих странах (Соединенное Королевство, Нидерланды, Япония, Австралия, Франция, Новая Зеландия и Соединенные Штаты Америки), где вызвал рост заболеваемости по сравнению с предыдущими сезонами.

Норовирусы GII.4 Sydney_2012 генотипа так же широко распространены в регионах Российской Федерации, в г. Сочи данный геновариант выявлен в 2016 г.

В период подготовки и проведения саммита Россия – Африка – 2019 г. методом ПЦР было исследовано 128 проб клинического материала (1270 исследований). При исследовании 99 проб материала от декретированного контингента в пробе от одного человека выявлена ДНК *Salmonella* spp. При исследовании 3 клинических образцов от больных, госпитализированных в инфекционные стационары, у одного пациента из Гвинейской Республики обнаружена РНК *Enterovirus*.

Таким образом, в результате проведенной работы получен положительный опыт применения технологий генотипирования в условиях СПЭБ, который должен учитываться в дальнейшем.

5. Определение структурных особенностей генома штамма *S. sonnei*, выделенного при вспышке ОКИ в г. Ткуарчал Республики Абхазия в ноябре 2013 года

В период подготовки и проведения Олимпиады-2014 особое внимание уделялось мониторингу санитарно-эпидемиологической обстановки на

сопредельных территориях, в частности, в Республике Абхазия. В конце ноября 2013 г. в г. Ткуарчал произошло резкое осложнение ситуации по ОКИ. Эпидемиологическая обстановка, сложившаяся к 29.11.2013, характеризовалась следующими особенностями: в короткий период времени (с 22.11. по 28.11.2013) за медицинской помощью с симптомами острого гастроэнтероколита (диарея (3-5 раз) с примесью слизи, режес крови, боли в животе, тенезмы, рвота, у детей – температура до 38 °С и симптомы умеренной общей интоксикации) обратились 522 человека, в т.ч. 213 (44,3 %) детей в возрасте до 14 лет. Среди заболевших детей в возрасте до 1 года не было. В эпидемиологическом анамнезе отмечено употребление некипяченой водопроводной воды большинством больных. В результате расследования случаев заболевания было установлено, что очаги ОКИ возникли одновременно в различных районах города.

В ходе проведения эпидемиологического расследования, с участием специалистов СПЭБ Роспотребнадзора, с применением лабораторных методов исследования был установлен этиологический агент вспышки – *S. sonnei*. Сопоставление динамики поступления больных в инфекционный стационар с динамикой определения нестандартных проб питьевой воды позволило предположить возможность реализации водного пути передачи возбудителя, который, как правило, не является основным для *S. sonnei*.

Методом MLST (основной метод) определены аллельные типы исследуемых генов: *adk* – 11, *fumC* – 63, *gyrB* – 7, *icd*– 1, *mdh* – 14, *purA* – 7, *recA* – 7, нуклеотидные замены в изученных локусах не выявлены. В результате был установлен сиквенс-тип штамма (наименование – *S. sonnei*-2013) – ST-152, являющийся одним из распространенных генотипов. Штаммы с ST-152 ранее выделялись в Германии в 2009 г. и в Китае в 2009-2010 гг., тогда как на территории РФ, согласно имеющейся в базе данных информации, ранее отсутствовали (рисунок 2).

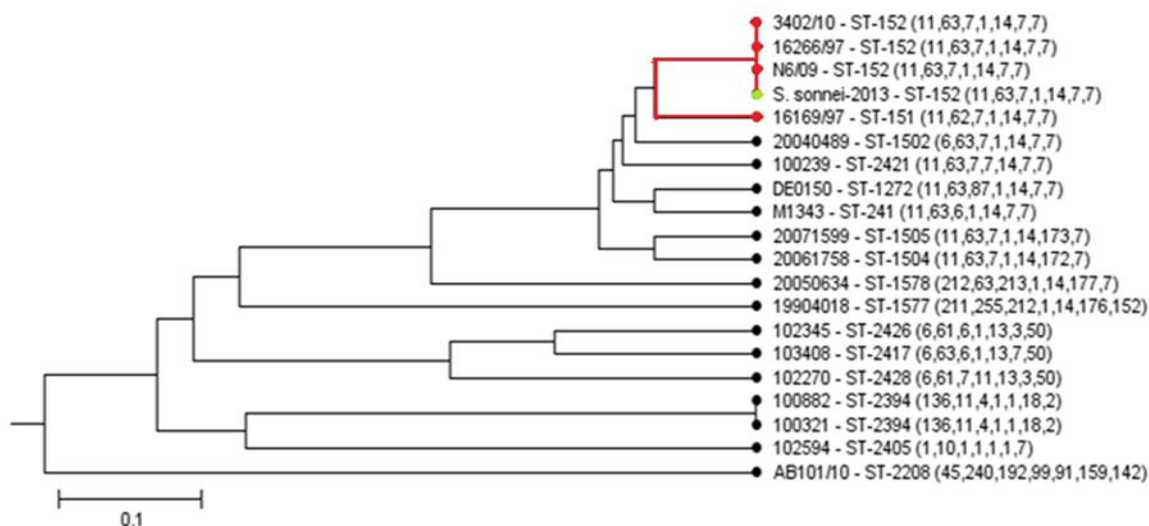


Рисунок 2 – Дендрограмма филогенетического родства штамма *S. sonnei*-2013

Для более углубленного изучения штамма *S. sonnei*-2013, определения важных отличительных особенностей было проведено полногеномное секвенирование (дополнительный метод). Его геном представлен 410 контигами общим размером 4471773 пар нуклеотидов (п.н.). Анализ показал высокую степень их сходства с последовательностью хромосомы и плазмид А, В, С и Е штаммов *S. sonnei* 53G и

S. sonnei Ss046. Однако также были выявлены контиги, обладающие высокой степенью сходства с плазмидами штаммов других видов микроорганизмов. Контиг 000006 (длина 5114 п.н.) представлял собой полноразмерную последовательность плазмиды pBS 512 штамма *S. boydii*. Кроме того, выявлено 9 контигов с высоким процентом сходства с последовательностью плазмиды pO26-Vir штамма *E. coli* (H30). В геноме *S. sonnei* отсутствуют гены, входящие в вирулентный регион плазмиды pO26-Vir, но имеются гены, регулирующие биосинтез пилей адгезии IV типа (pilL-pilV), которые являются одним из факторов патогенности, обеспечивая адгезию микроба к клеткам кишечного эпителия.

Таким образом, анализ результатов MLST-типирования штамма *S. sonnei*, выделенного во время вспышки ОКИ, показал значительную степень сходства нуклеотидной последовательности хромосомной ДНК с последовательностями ранее секвенированных штаммов, опубликованных в базе данных GeneBank. Однако результаты полногеномного секвенирования выявили уникальные отличия – наличие фрагментов плазмид вирулентности pBS 512 *S. boydii* и pO26-Vir *E. coli* H30 [Fratamico et al., 2011], обусловивших отличительные особенности штамма.

6. Анализ структуры генетических лабораторных исследований, выполненных в условиях работы СПЭБ Роспотребнадзора в период проведения Олимпиады – 2014

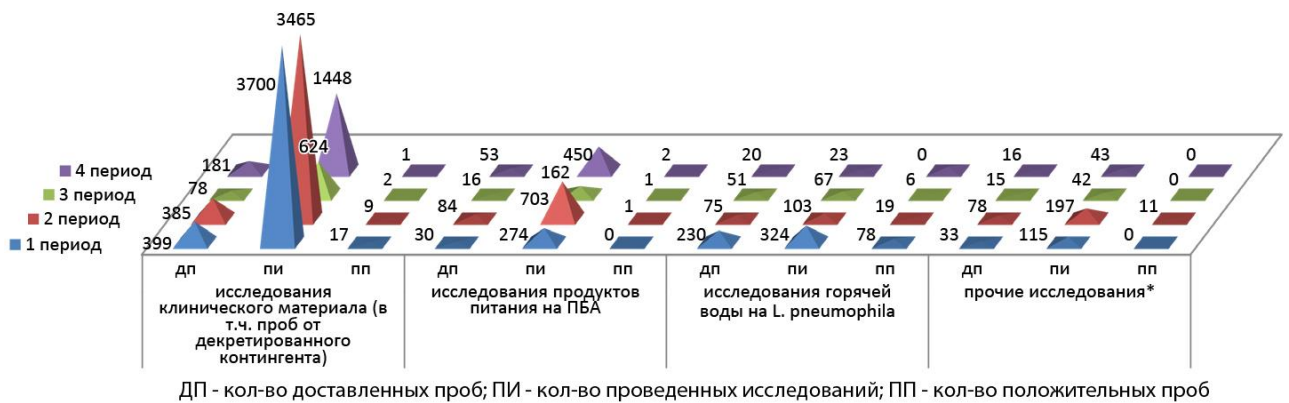
Как правило, деятельность лабораторных и противоэпидемических служб, в том числе СПЭБ, во время массового мероприятия можно условно разделить на 2 периода, отличающиеся по выполняемым задачам, – работа в период подготовки и работа в период проведения мероприятия. Во время Олимпиады – 2014 СПЭБ функционировала в течение 61 сут. С целью определения нагрузки и структуры лабораторных исследований, выполненных методом ПЦР, в различные этапы мероприятия выделены 4 периода, обосновано отличающихся по спектру решаемых задач:

- 1) преолимпийский – с 19.01. по 04.02.2014 (17 сут);
- 2) олимпийский – с 05.02 по 25.02.2014 (21 сут);
- 3) предпаралимпийский (межсоревновательный) – с 26.02. по 04.03.2014 (7 сут);
- 4) паралимпийский – с 05.03. по 20.03.2014 (16 сут).

Все лабораторные исследования, выполненные в СПЭБ методом ПЦР, были разделены на следующие группы:

- исследования клинического материала (в т.ч. проб от декретированного контингента);
- исследования продуктов питания на ПБА;
- исследования горячей воды на *L. pneumophila*;
- прочие исследования.

На рисунке 3 показана качественная (по группам) и количественная структура лабораторных анализов, проведенных в СПЭБ в различные периоды Олимпиады-2014.



* Клинический материал и объекты окружающей среды по эпидемическим показаниям, вода морская, открытых водоемов на группу кишечных вирусов, вода морская на вибриофлору, генотипирование и секвенирование штаммов, переданные культуры для идентификации возбудителей

Рисунок 3 – Структура лабораторных исследований СПЭБ в различные периоды массового международного мероприятия на примере Олимпиады – 2014

Графическое изображение медианного значения количества проведенных лабораторных исследований по группам в различные периоды Олимпиады – 2014 представлено на рисунке 4.

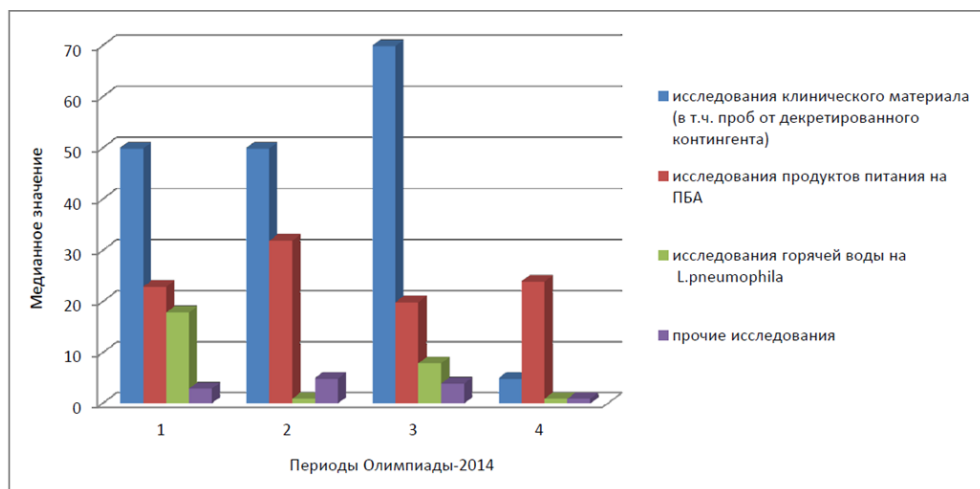


Рисунок 4 – Медианное значение количества проведенных лабораторных исследований в различные периоды массового международного мероприятия на примере Олимпиады – 2014

Общий количественный итог работы СПЭБ по генетическому лабораторному исследованию клинического материала и проб из объектов окружающей среды в различные периоды Олимпиады – 2014 подведен в таблице 2.

Таблица 2 – Структурная характеристика лабораторных исследований, выполненных в СПЭБ в различные периоды крупного массового международного мероприятия (на примере Олимпиады – 2014)

Период	Количество исследованных проб (в среднем в течение 1 сут)	Количество проведенных исследований (в среднем в течение 1 сут)	Количество положительных проб	Процент положительных проб от общего количества проб
1	692 (40,7)	4413 (259,6)	95	13,7
2	622 (29,6)	4475 (213,1)	40	6,4
3	160 (22,9)	895 (127,9)	9	5,6
4	270 (16,9)	1964 (122,8)	3	1,1

Как видно из таблицы, среднесуточные показатели поступивших проб и выполненных генетических анализов, а также процент положительных результатов уменьшались последовательно от первого периода Олимпиады – 2014 к четвертому. Очевидно, это является характерной особенностью работы СПЭБ в период крупных массовых мероприятий, в первую очередь длительных – 2 недели и более, и связано с постепенно изменяющейся структурой лабораторных исследований, организацией профилактических и противоэпидемических мероприятий. Данное обстоятельство должно учитываться при планировании деятельности бригады, в частности проведения лабораторных микробиологических исследований.

Таким образом, с помощью полученных результатов статистического анализа были обозначены общие тенденции. В дальнейшем эти данные могут составить основу при прогнозировании качественной и количественной структуры генетических лабораторных исследований, их изменения во времени при аналогичном алгоритме участия СПЭБ в санитарно-противоэпидемическом обеспечении, в первую очередь длительных, крупных массовых международных мероприятий.

ВЫВОДЫ

1. Впервые на основании результатов генетической идентификации изолятов нуклеиновых кислот возбудителей острых кишечных (рота-, коро-, астро- и энтеровирусы, *Salmonella* spp.) и природно-очаговых инфекций (хантавирусы, риккетсии группы КПЛ, боррелии) в период подготовки к чемпионату мира по футболу FIFA – 2018 проведено комплексное профилирование генотипов ПБА отдельной территории Российской Федерации (г. Сочи)

2. Предложен и реализован на практике алгоритм генетической характеристики ПБА, основанный на последовательном применении методик анализа генома в соответствии с решаемой задачей: идентификационной ПЦР (внутривидовая характеристика ПБА, определение его эпидемиологической значимости); основного метода генотипирования – выявление особенностей структуры участков генома, филогенетический анализ (MLVA, MLST, SNP, фрагментарного секвенирования по Сэнгеру и др.); дополнительного метода генотипирования – уточняющие методы для более глубокого изучения генома (MLVA, MLST, SNP, фрагментарное секвенирование по Сэнгеру или полногеномное секвенирование).

3. В результате практического применения структурированного алгоритма генетической характеристики ПБА в период Олимпиады – 2014 и других массовых мероприятий, проведенных в г. Сочи в 2015-2019 гг., систематизирована организация лабораторных исследований при осуществлении планового мониторинга и осложнениях эпидемиологической обстановки. Разработан порядок укомплектования СПЭБ Роспотребнадзора генодиагностическими препаратами,

основанный на учете структурных особенностей геномов актуальных возбудителей инфекций и оптимальных алгоритмов анализа: I – детекция (индикация) ПБА методом ПЦР; II – идентификация фрагментов генома методом ПЦР; IIIа и IIIб – последовательное генотипирование ПБА.

4. В результате применения последовательного генетического анализа определены структурные и филогенетические особенности генома штамма *S. sonnei*, ставшего этиологическим агентом вспышки ОКИ в г. Ткуарчал Республики Абхазия в ноябре 2013 г.: с использованием MLST (основной метод) установлен его сиквенс-тип – ST-152; с помощью полногеномного секвенирования (дополнительный метод) выявлено наличие фрагментов плазмид вирулентности pBS 512 *S. boydii* и pO26-Vir *E. coli* H30, содержащих гены, детерминирующие синтез пилей адгезии IV типа (*pilL-pilV*), определивших эпидемиологическую значимость штамма.

5. На примере зимней Олимпиады – 2014 определены количественные показатели генетических лабораторных исследований, выполненных СПЭБ Роспотребнадзора при проведении эпидемиологического надзора и социально-гигиенического мониторинга, в период подготовки и проведения крупного массового международного мероприятия: удельный вес молекулярно-генетических исследований составил 92 % от общего числа анализов, среднее количество исследований в периоды подготовки в 1,5 раза превышало среднесуточную нагрузку в соревновательные периоды. В структуре генетических лабораторных исследований преобладали анализы материала от людей с максимумом в предолимпийский период (217,6 в сут.) и воды из систем водоснабжения в этот же период (19,1 в сут.).

Практические рекомендации

Предложенные алгоритмы лабораторного анализа и принципы формирования диагностической базы СПЭБ Роспотребнадзора могут быть использованы в дальнейшем при участии СПЭБ Роспотребнадзора в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения в периоды подготовки и проведения массовых мероприятий.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. XXII Олимпийские зимние игры и XI Паралимпийские зимние игры 2014 года в г. Сочи. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия: [коллективная монография] / Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, Б.П. Кузькин, И.В. Брагина, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, А.А. Горский, А.С. Гуськов, О.И. Аксенова, А.А. Мельникова, Н.Д. Пакскина, Г.Е. Иванов, Л.В. Чикина, Е.С. Почтарева, В.С. Степанов, О.В. Прусаков, Н.В. Андрияшина, О.Н. Скударева, Н.В. Фролова, В.Ю. Смоленский, З.М. Омариёв, А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.В. Ефременко, Т.В. Таран, Е.А. Манин, А.Г. Рязанова, Н.Ф. Василенко, Д.Г. Пономаренко, В.М. Дубянский, В.Н. Савельев, **И.В. Кузнецова**, Е.С. Котенёв, Г.М. Грижебовский, В.П. Клиндухов, П.Н. Николаевич, Т.В. Гречаная, М.И. Балаева, В.А. Бирюков, И.И. Божко, Ю.Г. Дараган, О.Ю. Карпунин, М.А. Потёмкина, Л.С. Вечерняя, В.А. Егоров, Е.А. Вечерняя, С.Ч. Тешева, В.В. Пархоменко, О.А. Куличенко, Г.К. Рафеенко, Л.И. Щербина, Т.А. Землякова, Е.О. Кузнецов, В.Г. Оробей, С.Б. Вараксин, Л.И. Мишина, В.Н. Ефимчук, Р.Р. Аминев, О.А. Погудина, Т.Г. Чаплыгина, Н.С. Комарова, Е.А. Беланова, Е.П. Шевченко, В.Е. Елдинова, О.М. Пиликова, Е.А. Бойко, С.К. Дерлятко, В.И. Малай,

Ю.В. Юничева, Л.Е. Василенко, И.К. Романович, А.Н. Барковский, А.В. Громов, Е.С. Казакова, Т.Ю. Красовская, С.А. Портенко, В.Е. Куклев, В.В. Кутырев, И.А. Дятлов, Н.Н. Карцев, Е.В. Мицевич, А.В. Ковальчук, А.Ю. Кармишин, А.А. Петров, Е.В. Рождественский, С.В. Борисевич, О.В. Тушина, Н.В. Зайцева, И.В. Май, С.В. Клейн, С.А. Вековшинина, Е.Ф. Филиппов, А.В. Бурлуцкая, В.Н. Городин / Под редакцией академика РАН Г.Г. Онищенко, профессора А.Н. Куличенко. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2015. – 576 с.

2. Чемпионат мира по футболу 2018 года в России: обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия: [коллективная монография] / Чемпионат мира по футболу 2018 года в России: обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия / А.Ю. Попова, В.Ю. Смоленский, И.В. Брагина, Б.П. Кузькин, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, Н.Д. Пакскина, И.Г. Шевкун, А.С. Гуськов, В.С. Степанов, В.Ю. Ананьев, М.В. Зароченцев, В.В. Мордвина, А.А. Гарбузова, В.В. Кутырев, С.А. Щербакова, Е.С. Казакова, И.Г. Карнаухов, О.В. Кедрова, В.П. Топорков, С.К. Удовиченко, А.Е. Шиянова, Л.Н. Дмитриева, Е.А. Чумачкова, А.В. Иванова, С.А. Портенко, И.Н. Шарова, Е.В. Найденова, И.А. Касьян, Ж.А. Касьян, В.Е. Куклев, Т.Ю. Красовская, А.С. Абдрашитова, А.М. Сеничкина, А.В. Казанцев, М.В. Проскурякова, Е.А. Билько, А.А. Лопатин, С.М. Иванова, В.В. Горшенко, А.В. Топорков, Д.В. Викторов, В.П. Смелянский, Е.В. Путинцева, К.В. Жуков, Л.О. Шахов, С.Н. Чеснокова, А.Н. Куличенко, Е.А. Манин, А.С. Вольнкина, **И.В. Кузнецова**, А.А. Хачатурова, Д.В. Ефременко, И.К. Романович, А.Н. Барковский, К.А. Сапрыкин, Е.Е. Андреева, Е.Н. Игнатова, Ю.Н. Момот, Н.Н. Фомкина, Т.В. Федунова, Е.В. Назаренко, И.И. Пискарева, А.И. Худобородов, П.А. Истратов, Т.П. Рябенко, В.В. Кравченко, Ю.В. Кобзева, А.В. Иваненко, Н.А. Волкова, Н.В. Трусова, И.А. Левкин, И.В. Новик, О.М. Микаилова, М.А. Костина, О.В. Богатикова, Ф.В. Тарасов, К.Р. Гвазава, Н.С. Башкетова, Е.И. Смирнова, И.А. Заботина, Г.А. Горский, И.Г. Чхинджерия, О.Н. Смелова, И.А. Соколовская, А.Ф. Куприянов, В.Л. Романцова, Р.К. Фридман, И.В. Драй, Т.А. Гречанинова, С.М. Сибиряков, О.Ю. Олейник, Н.Е. Репникова, Т.Б. Кутасова, А.О. Шапарь, А.В. Еремин, А.Ю. Клименко, О.А. Историк, М.А. Черный, И.О. Мясников, А.Г. Мадоян, И.А. Чмырь, П.М. Суханов, И.В. Горбунова, И.И. Яровая, Н.М. Титова, М.А. Патяшина, М.В. Трофимова, Л.Г. Авдоница, Л.А. Балабанова, Л.Р. Юзлибаева, Л.О. Борисова, Л.Т. Гараева, М.А. Замалиева, Е.П. Сизова, Э.А. Сибгатуллина, А.М. Гиниятова, А.Р. Сабирзянов, Л.В. Ставропольская, И.С. Курбанов, Э.Д. Салахияева, В.В. Гасилин, Г.Д. Кравцова, Г.Г. Бадамшина, А.Л. Шарафутдинова, М.В. Хакимзянова, Л.Г. Иванова, В.А. Миронова, А.З. Зарипова, М.А. Потемкина, Т.В. Гречаная, М.И. Балаева, С.Ч. Тешева, Д.С. Ваниева, О.А. Пчельник, С.И. Мирошниченко, Е.В. Колос, Е.А. Вечерняя, В.Г. Оробей, С.Б. Вараксин, С.И. Бахаровская, В.И. Ефимчук, В.В. Куканова, О.А. Погудина, Е.В. Сыромля, Л.И. Мишина, Н.С. Комарова, Е.С. Чехвалова, И.В. Мищенко, Л.Г. Кучук, О.Г. Швеиц, В.И. Малай, Ю.В. Юничева, Т.Е. Рябова, Г.П. Шкури, И.М. Медяник, А.Д. Отставнова, А.Е. Классовская, С.В. Кузьмин, Д.Н. Козловских, И.А. Власов, А.И. Юровских, С.А. Перминова, С.В. Скрыбина, Н.Г. Шелунцова, Е.В. Бобылева, Т.Ю. Шулешов, А.В. Власов, С.В. Романов, И.В. Чистякова, С.В. Колтунов, А.С. Килячина, Е.А. Зверева, Е.В. Ковалев, А.В. Конченко, Е.Г. Ерганова, С.А. Коржов, М.М. Родионова, М.В. Калинина, С.А. Ненадская, Н.В. Леоненко, Ю.В. Рыжков, Е.А. Пономарева, Г.В. Карпущенко, Е.В. Егорушкин, И.П. Кульвец, А.В. Ефимова, М.М. Швагер, А.В. Литовко, А.М. Рябова, А.Ю. Гончаров, Е.Г. Тарасян, Д.Г. Кочубей, В.В. Миренский, Е.А. Бабура, А.А. Васильев, Т.Ю. Григорян, С.В. Соловьева, С.В. Щептева, О.П. Михеенко, Т.Ф. Орденко, Л.А. Шателюк, Т.Н. Погребная, А.В. Стефановская, Е.А.

Петренко, А.А. Калугин, А.В. Ершова, О.В. Зубарева, И.А. Климина, Е.В. Резников, Н.В. Аброськина, Ю.В. Кетов, Е.М. Краснова, И.Г. Краснов, Н.М. Мальков, С.В. Перехожев, Е.В. Серова, М.Н. Скаковский, В.В. Астапова, Е.И. Ромасова, Е.О. Осетрова, С.В. Архипова, Р.Р. Галимова, С.А. Шерстнева, В.В. Аржанова, И.В. Коротких, И.О. Митюнина, О.Ю. Рязанова, Л.В. Чупахина, В.Г. Зотов, В.Г. Щелокова, Н.С. Кучеренко, О.Е. Степанова, Н.А. Садыкова, М.А. Шарабакина, М.М. Самодурова, О.Ю. Косарева, С.А. Бачаев, Д.А. Липшиц, Ю.А. Никитина, Н.К. Цветкова, Т.В. Осипова, Т.Ю. Феклина, Е.К. Лузина, И.В. Конева, Е.А. Солкина, Н.А. Калашникова, В.Ф. Сидорова, Г.А. Чехова, А.Ю. Балина, Т.П. Харитоновна, Н.Ю. Фадеева, В.Б. Окунев, Ю.В. Матвеева, Л.В. Курганская, Г.П. Бардина, Е.Н. Кочетов, Е.И. Журавлева, А.И. Богачева, Н.М. Хвастунова, О.А. Лотванова, Е.П. Чумакова, Т.И. Бурлакова, М.Ф. Мартынова, Ю.Н. Каськов / Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. – Нижний Новгород: Исток, 2019. – 448 с. – ISBN 978-5-906546-14-2.

3. Онищенко, Г.Г. Обеспечение готовности и организация работы СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи // Г.Г. Онищенко, Б.П. Кузькин, Ю.В. Демина, А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.В. Ефременко, А.Г. Рязанова, **И.В. Кузнецова**, В.Н. Савельев, Г.М. Грижебовский, В.В. Кутырев, И.А. Дятлов, В.Е. Елдинова, Ю.В. Юничева, С.К. Дерлятко, В.Г. Оробей, В.П. Клиндухов, А.Д. Антоненко // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – Вып. 1. – С. 58-62. (**Из Перечня ВАК**).

4. Куличенко, А.Н. Обеспечение готовности специализированных противоэпидемических бригад к работе при проведении массовых мероприятий / А.Н. Куличенко, Д.В. Ефременко, **И.В. Кузнецова**, О.А. Зайцева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2014. – № 1. – С. 76– 80. (**Из Перечня ВАК**).

5. Онищенко, Г.Г. Особенности функционирования и взаимодействия диагностических лабораторий, задействованных в обеспечении защиты от инфекционных болезней, при проведении XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр в г. Сочи // Г.Г. Онищенко, А.Ю. Попова, И.В. Брагина, Б.П. Кузькин, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, А.С. Гуськов, Г.Е. Иванов, Л.В. Чикина, В.П. Клиндухов, Т.В. Гречаная, С.Ч. Тешева, А.Н. Куличенко, Д.В. Ефременко, Е.А. Манин, **И.В. Кузнецова**, В.В. Пархоменко, О.А. Куличенко, Г.К. Рафеенко, Л.И. Щербина, Д.Л. Завора, А.Ф. Брюханов, В.Е. Елдинова, Ю.В. Юничева, С.К. Дерлятко, Н.С. Комарова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – № 1. – С. 109–114. (**Из Перечня ВАК**).

6. Кузькин, Б.П. Применение современных методов генотипирования возбудителей инфекционных болезней в условиях оперативной работы специализированной противоэпидемической бригады в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр / Б.П. Кузькин, А.Н. Куличенко, А.С. Волынкина, Д.В. Ефременко, **И.В. Кузнецова**, Е.С. Котенев, Г.И. Лямкин, Н.Н. Карцев, В.П. Клиндухов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – № 2. – С. 119–122. (**Из Перечня ВАК**).

7. Брагина, И.В. Организация работы и порядок лабораторной диагностики инфекционных болезней во время проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года / И.В. Брагина, Б.П. Кузькин, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, А.Н. Куличенко, Д.В. Ефременко, О.В. Малецкая, **И.В. Кузнецова**, Е.А. Манин, Г.И. Лямкин, В.В. Кутырев, С.А.Портенко, Т.Ю. Красовская, В.В.

Пархоменко, Л.И. Щербина, В.П. Клиндухов, Т.В. Гречаная, С.С. Тешева, В.Г. Оробей, Д.Л. Завора, А.Ф. Брюханов, В.Е. Елдинова, Ю.В. Юничева, О.М. Пиликова, С.К. Дерлято // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – № 2. – С. 13–16. (**Из Перечня ВАК**).

8. Кузькин, Б.П. Результаты работы СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи / Б.П. Кузькин, А.Н. Куличенко, О.В. Малецкая, Д.В. Ефременко, Е.А. Манин, Е.С. Котенев, А.Г. Рязанова, **И.В. Кузнецова**, С.П. Дикова, Я.В. Лисицкая, А.С. Волынкина, Д.Г. Пономаренко, В.Е. Елдинова, Е.А. Бойко, В.П. Клиндухов, В.Г. Оробей, В.В. Кутырев, Е.С. Казакова, В.Е. Куклев, И.А. Дятлов, Н.Н. Карцев // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – № 2. – С. 17–21. (**Из Перечня ВАК**).

9. Онищенко, Г.Г. Эпидемическая вспышка шигеллёза Зонне в Республике Абхазия в 2013 году // Г.Г. Онищенко, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Демина, А.Н. Куличенко, В.Н. Савельев, Д.С. Агапитов, А.С. Волынкина, **И.В. Кузнецова**, Т.В. Таран, Д.В. Ефременко, А.И. Беляева, З.Г. Маршан, Л.М. Полихова, В.В. Барциц, В.Г. Оробей // Журнал Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – № 2. – С. 26–30. (**Из Перечня ВАК**).

10. Васильева, О.В. Молекулярно-генетическая характеристика штамма *Shigella sonnei*-2013, выделенного при вспышке дизентерии в Республике Абхазия в 2013 году / О.В. Васильева, А.С. Волынкина, **И.В. Кузнецова**, С.В. Писаренко, А.Н. Куличенко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 1. – С. 72–76. (**Из Перечня ВАК**).

11. **Кузнецова, И.В.** Применение принципов многофакторного генетического анализа возбудителей инфекционных болезней в работе СПЭБ Роспотребнадзора в период массовых мероприятий / И.В. Кузнецова, Д.В. Ефременко, А.Н. Куличенко // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – № 2. – С. 68–72. (**Из Перечня ВАК**).

12. Попова, А.Ю. Применение молекулярно-генетического анализа и геномного профилирования возбудителей инфекционных болезней региона Сочи в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу FIFA-2018 / А.Ю. Попова, А.Н. Куличенко, А.С. Волынкина, **И.В. Кузнецова**, А.Т. Подколзин, Е.В. Чехвалова, В.Г. Оробей // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – № 3. – С. 54–59. (**Из Перечня ВАК**).

13. Куличенко, А.Н. Генетическое профилирование актуальных для региона г. к. Сочи возбудителей природно-очаговых и кишечных инфекций / А.Н. Куличенко, А.С. Волынкина, Я.В. Лисицкая, Е.С. Котенев, **И.В. Кузнецова**, А.Т. Подколзин, Е.В. Зайцева, Н.В. Паркина, В.Г. Оробей // Бактериология. – 2016. – Т. 1, № 1. – С. 16–21.

14. Ефременко, Д.В. О подготовке к обеспечению защиты от биологических угроз в период Олимпиады 2014 года в Сочи, участие СПЭБ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора / Д.В. Ефременко, **И.В. Кузнецова**, О.А. Зайцева, А.Н. Куличенко // Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в Причерноморском регионе: матер. региональной науч.-практ. конф. с международным участием, 24–25 сентября 2013 г., г. Ставрополь: электрон. изд. – Ставрополь, 2013. – С. 73–76.

15. **Кузнецова, И.В.** Методы генотипирования микроорганизмов в системе эпиднадзора при массовых мероприятиях / И.В. Кузнецова, А.С. Волынкина, Д.В. Ефременко, Д.А. Ковалев, А.Н. Куличенко // Социально-значимые и особо

опасные инфекционные заболевания: матер. II Всеросс. науч.-практ. конф. с международ. участием, г. Сочи, 2–5 ноября 2015 г. – Сочи, 2015. – С. 86.

16. **Кузнецова, И.В.** Структурированный подход использования методов генетического анализа для решения эпидемиологических задач при работе СПЭБ Роспотребнадзора в период массовых мероприятий / И.В. Кузнецова, Д.В. Ефременко, А.Н. Куличенко // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: материалы II Всеросс. научно-практ. конф. с международным участием, Ставрополь, 5-6 апреля 2017 г. Режим доступа: <http://snipchi.ru>. – С. 159–160.

17. **Кузнецова, И.В.** Применение принципов многофакторного генетического анализа возбудителей инфекционных болезней в работе СПЭБ Роспотребнадзора в период XIX Всемирного фестиваля молодёжи и студентов в г. Сочи в 2017 году / **И.В. Кузнецова**, А.С. Волынкина, Т.И. Чишнюк, Д.В. Ефременко, Д.А. Ковалев, А.Н. Куличенко // Молекулярная диагностика 2018: сб. тр. международной науч.-практ. конф. (Минск, 27–28 сентября 2018 г.) / под ред. В.И. Покровского. – Минск: СтроймедиаПроект, 2018. – С. 466.

18. **Кузнецова, И.В.** Применение алгоритма молекулярно-генетической характеристики возбудителей инфекционных болезней при работе СПЭБ Роспотребнадзора в период чемпионата мира по футболу FIFA-2018 в г. Сочи / И.В. Кузнецова, А.С. Волынкина, Т.И. Чишнюк, Д.В. Ефременко, Д.А. Ковалев, А.Н. Куличенко // Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: матер. X Всероссийской науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Москва, 24–26 октября 2018 г.). – М.: Русский Печатный Двор, 2018. – С. 211–212.

19. Манин, Е.А. Участие специалистов ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора в обеспечении биологической безопасности населения в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу FIFA 2018 в г. Сочи / Е.А. Манин, Н.Ф. Василенко, А.С. Волынкина, **И.В. Кузнецова**, А.А. Хачатурова, И.В. Савельева, И.Н. Заикина, О.Н. Гаврилова, Т.И. Чишнюк, А.Н. Куличенко // Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ: матер. XIV Межгосударственной науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов, 20–21 ноября 2018 г.). – Саратов: Амирит, 2018. – С. 242–244.