Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
(ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)

На правах рукописи

Замотаева Татьяна Львовна

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА, НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

3.2.2. Эпидемиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
академик РАН,
доктор медицинских наук,
профессор
Акимкин Василий Геннадьевич

Москва – 2026 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 21

1.1. Эпидемиологическая характеристика эпидемического паротита в мире и в Российской Федерации 21

1.2. Этиологическая характеристика эпидемического паротита 26

1.3. Генетическое разнообразие вируса эпидемического паротита и вакцинные штаммы 29

1.4. Клинико-эпидемиологические особенности инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита 34

1.5. Лабораторная диагностика эпидемического паротита 37

1.6. Эпидемиологический надзор за эпидемическим паротитом 43

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 48

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 48

ГЛАВА 3. ДИНАМИКА УРОВНЯ И СТРУКТУРЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ПАРОТИТОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 59

3.1. Динамика уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом на территории Российской Федерации 59

3.2. Динамика уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан 68

3.3. Очаговость в эпидемическом процессе эпидемического паротита 71

3.4. Уровень охвата своевременной иммунизацией против эпидемического паротита в Российской Федерации 73

ГЛАВА 4. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 77

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК ВИРУСА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ И ОЦЕНКА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ 84

5.1. Разработка методики для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени 84

5.2. Разработка методики для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита на основе петлевой изотермической амплификации 92

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ВИРУСА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА МЕТОДОМ СЭНГЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ 102

6.1. Секвенирование геномных некодирующих областей вируса эпидемического паротита..... 102

6.2. Секвенирование гена *HN*..... 108

ГЛАВА 7. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ НАПРАВЛЕНИЙ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА, НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ 115

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 126

ВЫВОДЫ 139

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... 142

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ 144

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ..... 145

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эпидемический паротит – вакциноуправляемая инфекция, традиционно считавшаяся «детской». Однако, в последние годы в возрастной структуре заболеваемости увеличилась доля взрослых, что таит в себе серьезную опасность из-за возможности поражения нервной и репродуктивной систем, приводя, в том числе, к росту скрытого бесплодия [Ниналалов М.А., 2024; Wu H., 2021]. Закономерным следствием отсутствия иммунитета к вирусу эпидемического паротита у части матерей является также то, что их новорожденные дети, не обладая пассивным (материнским) иммунитетом, не защищены от этой инфекции с момента рождения и могут активно вовлекаться в эпидемический процесс эпидемического паротита на протяжении первого года после рождения [Арбулиева Е.А., 2017]. Вместе с тем, возросло количество больных с атипичными формами инфекции, а также с микст-инфекциями, что может затруднять постановку диагноза по клинической картине. Учитывая, что поражения центральной нервной системы и железистых органов могут иметь полиэтиологичную природу, обусловленную широким спектром патогенов, внедрение лабораторных методов становится критически важным для дифференциальной диагностики эпидемического паротита [Михеева И.В., 2009, 2017]. Рост заболеваемости эпидемическим паротитом в последнее десятилетие, вероятно, обусловлен недостаточным охватом вакцинацией, а также снижением поствакцинального иммунитета у некоторых привитых лиц вследствие отсутствия естественного «бустер-эффекта» на фоне спорадической заболеваемости в течение ряда лет, несвоевременным проведением противоэпидемических и профилактических мероприятий в очагах инфекции, а также завозом возбудителя из регионов, неблагополучных по эпидемическому паротиту (страны Африки и Юго-Восточной Азии) [Тураева Н.В., 2021].

В настоящее время эпидемическая ситуация по эпидемическому паротиту в Российской Федерации характеризуется преобладанием в возрастной структуре заболеваемости подростков и молодого трудоспособного населения [Семериков В.В., 2019]. Опыт изучения показывает, что в данной возрастной когорте чаще встречаются осложнения в виде панкреатита, менингита, орхита и оофорита, приводящие к существенному демографическому и экономическому ущербу [Михеева И.В., 2017, 2020]. Так, экономическая значимость эпидемического паротита в пределах Российской Федерации в последние годы демонстрирует рост и, согласно данным Государственного доклада Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, в 2024 году ущерб составил более 132 миллионов рублей.

Больной эпидемическим паротитом считается заразным за 2 дня до и 5-9 дней после появления симптомов заболевания. В первые 3 суток болезни вирусная нагрузка максимальная. Больные с бессимптомной формой также могут быть источником инфекции. В ряде публикаций описано, что титр защитных антител после вакцинации со временем может снижаться в среднем на 20% за 10 лет [Briggs K., 2022; Connell A.R., 2020]. Метаанализ нескольких исследований показал, что поствакцинальный иммунитет против эпидемического паротита критически ослабевает через 27 лет [Lewnard J.A., 2018]. При накоплении в популяции восприимчивых лиц могут возникать вспышки эпидемического паротита. Для предотвращения распространения вируса, особенно в закрытых коллективах (школьники, студенты, военнослужащие), необходимо иметь эффективные инструменты для ранней диагностики эпидемического паротита. Для лабораторного подтверждения случаев эпидемического паротита ВОЗ рекомендует использовать следующие способы: изоляция вируса из образца биологического материала (в рутинной диагностической практике в настоящее время не используется), выявление вирусной РНК методом обратно-транскриптазной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР), выявление специфических иммуноглобулинов к вирусу эпидемического паротита (IgM) или исследование парных образцов сывороток на наличие диагностически значимого повышения

титра IgG методом иммуноферментного анализа (ИФА) [ВОЗ, 2018]. Образцы сыворотки крови для выявления IgM методом ИФА отбирают не ранее 4 дня от начала заболевания. Для ранней лабораторной диагностики эпидемического паротита используют молекулярно-биологические методы. Метод ПЦР может быть применен для идентификации возбудителя у пациентов как с классическими клиническими симптомами эпидемического паротита, так и у пациентов с атипичными формами заболевания (наиболее высокая вирусная нагрузка отмечается в первые три дня заболевания). CDC рекомендует [CDC, 2024] в качестве метода лабораторного подтверждения эпидемического паротита использовать ОТ-ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). В Российской Федерации согласно СанПиН 3.3686-21 для лабораторной диагностики эпидемического паротита применяют только серологический метод. В качестве стандартного теста используется определение IgM.

Возбудитель эпидемического паротита – РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Paramyxoviridae*, роду *Rubulavirus*. РНК вируса одноцепочечная, отрицательной полярности, длиной 15384 пар оснований, кодирует 7 структурных белков: нуклеопротеин (N), малый гидрофобный белок (SH), мембранный белок (M), белок слияния (F), гемагглютинин-нейраминидаза (HN), большой белок (L) и фосфопротеин (P); а также неструктурные белки V и I [Чехляева Т.С., 2022]. N – основной белок нуклеокапсида, защищает РНК от клеточных протеаз, фосфорилирован. Белок P участвует в формировании транскриптазного комплекса с N и L, фосфорилирован. Неструктурный белок V ингибирует активность интерферона в инфицированных клетках. Белок SH – ингибитор индукции TNF-α в инфицированных клетках. Мембранный белок участвует в ориентации нуклеиновой кислоты. Белок F обеспечивает слияние мембран и внедрение вирусного материала в клетку, гликозилирован. NH – поверхностный гликопротеин, гликозилирован. L – РНК-зависимая РНК-полимераза, присутствует в наименьших количествах, формирует комплекс с белком P [Носова А.О., 2023].

Генотипирование вируса эпидемического паротита основано на различиях в последовательностях гена *SH*. В настоящее время в мире циркулируют 12 генотипов вируса (A, B, C, D, F, G, H, I, J, K, L, N), выделенных на основании различий нуклеотидной последовательности гена *SH* в количестве 316 нуклеотидов [ВОЗ, 2019]. Гетерогенность в нуклеотидной последовательности генов дикого вируса составляет от 9 до 20% [Jin L., 2015, Семериков В.В., 2019]. Современная мировая практика здравоохранения опирается на применение следующих вакцинных штаммов против эпидемического паротита: *Jeryl Lynn* и его дериват *Rit 4385* (США), *Leningrad-3*(Россия), *Urabe AM9*, *Hoshino*, *Miyahara* (Япония), *Leningrad-Zagreb* (Хорватия), *Rubini* (Швейцария), *Sofia-6* (Болгария).

В литературе отсутствуют данные о зависимости клинического течения заболевания от генотипа вируса. Большинство используемых в настоящее время вакцинных штаммов получены на основе генотипа А, который в популяции длительное время не циркулирует, однако антитела, образующиеся после вакцинации, эффективны в отношении всех генотипов вируса, поскольку часть антител направлена на консервативные области белков с ограниченными возможностями для изменчивости [Gouma, 2016; Носова А.О., 2023]. При этом за прошедшие несколько лет появились публикации об уходе новых геновариантов генотипа G от иммунного ответа и необходимости пересмотра состава вакцин [Shah M., 2018; Willocks L.J., 2017].

Разработка методик для выявления РНК вируса эпидемического паротита с помощью молекулярно-биологических методов является актуальной задачей. В базе данных GenBank задепонировано всего 230 последовательностей вируса эпидемического паротита из Российской Федерации, причем большая часть последовательностей – это только фрагмент гена *SH*. Из пяти представленных полногеномных последовательностей три являются вакцинными штаммами, вирус дикого типа представлен лишь двумя последовательностями 2004 года. Следует отметить, что вирус эпидемического паротита является достаточно вариабельным, поэтому внедрение методик секвенирования других локусов (не только *SH* гена) методом Сэнгера будет способствовать совершенствованию подходов к

молекулярно-генетическому мониторингу в рамках осуществления эпидемиологического надзора за возбудителем эпидемического паротита, а также позволит оценивать актуальность антигенного состава вакцин.

В связи с вышеизложенным, в целях снижения уровня заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации необходима модернизация системы эпидемиологического надзора за возбудителем данной инфекции посредством внедрения эффективных молекулярно-биологических методов диагностики.

Степень разработанности темы исследования

Всемирная организация здравоохранения относит эпидемический паротит к инфекциям, которые могут быть ликвидированы с помощью активной иммунизации населения [Семериков В.В., 2020]. Благодаря введению двукратной вакцинации, на территории Российской Федерации на протяжении двух последних десятилетий удалось добиться спорадической заболеваемости этой инфекцией, однако после многолетнего эпидемиологического благополучия заболеваемость эпидемическим паротитом вновь стала расти, при этом уровень охвата вакцинацией детского населения в рамках Национального календаря профилактических прививок остается стабильно высоким [Михеева И.В., 2017]. На основе Стратегического плана ВОЗ в России принята Программа «Элиминация кори и краснухи, достижение спорадической заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации (2021-2025)» [Чехляева Т.С., 2022], в рамках которой применяются единые методы глобального мониторинга циркуляции вирусов кори и краснухи, предложенные в отечественной практике еще в 2002-2004 годах [СП 3.1.2.1176-02, 2002; Болотовский В.М. и др., 2004]. Несмотря на это, в отношении вируса эпидемического паротита подобная практика до сих пор не внедрена [Рубальская Т.С., 2025].

В настоящее время для лабораторного подтверждения диагноза «Эпидемический паротит» используются, преимущественно, серологические

методы. Была проведена сравнительная оценка эффективности применяемых диагностических тест-систем с определением их чувствительности и специфичности [Семериков В.В., 2023]. Стандартное определение клинического случая эпидемического паротита приводится в действующих методических указаниях МУ 3.1.2.4075-24. Данный документ был утвержден руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека – Главным государственным санитарным врачом России А.Ю. Поповой. Однако, исторически данная формулировка закрепилась в отечественной практике заметно раньше: еще в рамках первых единых санитарно-эпидемиологических правил 2002 года [СП 3.1.2.1176-02, 2002; МУ 3.1.2.4075-24, 2024]. Вместе с тем, опыт применения молекулярно-биологических методов, включая ПЦР, петлевую изотермическую амплификацию (LAMP) и секвенирование, для совершенствования подходов к эпидемиологическому надзору за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, в нашей стране невелик, о чем свидетельствует ограниченное количество публикаций, посвященных данной теме.

Изучению эпидемиологических аспектов эпидемического паротита посвящены работы отечественных ученых Болотовского В.М., Демидовой Л.А., Лыткиной И.Н., Михеевой И.В., Рубальской Т.С. Рубинова Г.Е., Селимова М.А., Тихоновой Н.Т., Шаханиной И.Л., Юминовой Н.В. и ряда других. В многочисленных публикациях проанализированы особенности эпидемического процесса инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита, в условиях плановой вакцинопрофилактики и механизмы формирования эпидемических очагов в детских коллективах с различным уровнем иммунной прослойки к эпидемическому паротиту, показано влияние различных факторов на эффективность живой паротитной вакцины, рассмотрено эпидемическое значение инаппарантных форм заболевания, а также систематизированы подходы к управлению эпидемическим процессом в современных условиях с целью элиминации эпидемического паротита и сделали возможным создание унифицированной системы управления эпидемическим процессом кори, краснухи

и эпидемического паротита. Данные о генетическом разнообразии вируса эпидемического паротита в Российской Федерации [Рубальская Т.С., 2025], а также результаты многолетних исследований И.В. Михеевой по иммуноэпидемиологическому обоснованию системы управления эпидемическим процессом, закономерностям формирования очагов инфекции в организованных коллективах и оценке эффективности вакцинопрофилактики позволили сформулировать основные принципы эпиднадзора за эпидемическим паротитом. Дальнейшее изучение особенностей возбудителя эпидемического паротита с помощью современных молекулярно-биологических подходов является важным направлением совершенствования системы эпидемиологического надзора.

Цель исследования

Совершенствование эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, на основе молекулярно-биологических методов.

Задачи исследования

1. Проанализировать динамику уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации.
2. Изучить генетическое разнообразие возбудителя эпидемического паротита, циркулирующего на территории Российской Федерации.
3. Разработать методики на основе полимеразной цепной реакции и петлевой изотермической амплификации для выявления РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале и оценить их эффективность.
4. Разработать методику секвенирования вируса эпидемического паротита методом Сэнгера с использованием новых молекулярных маркеров.

5. Научно обосновать и предложить направления совершенствования эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, на основе молекулярно-биологических методов.

Научная новизна исследования

На основе проведенного комплексного анализа были впервые определены современные закономерности и территориальные особенности эпидемического процесса эпидемического паротита в Российской Федерации. Показана неравномерность распределения заболеваемости среди населения страны с наибольшим регистрируемым ее уровнем в Северо-Кавказском федеральном округе (более 80% всех зарегистрированных случаев в стране) и устойчивой тенденцией к росту заболеваемости в последние годы (2022-2024 гг.) (p <0,001). Выявлено изменение структуры заболевших с накоплением восприимчивого контингента среди взрослого населения и сдвигом детской заболеваемости в сторону младшей возрастной когорты (3-6 лет), доля которой составила до 35,05% от общего числа заболевших детей.

Впервые в масштабах страны осуществлена комплексная генетическая характеристика циркулирующих штаммов вируса, выявившая доминирование генотипа G (более 85%) на фоне одновременной циркуляции генотипов J и C, охарактеризованных как независимые спорадические заносы инфекции.

В ходе работы разработана и научно обоснована оригинальная методика мультилокусного филогенетического анализа на основе секвенирования по Сэнгеру трех быстро эволюционирующих некодирующих областей (*NP-NCR, PM-NCR, MF-NCR*) и гена *HN*, обладающая более высокой разрешающей способностью по сравнению со стандартным протоколом.

Впервые осуществлен сравнительный молекулярный анализ актуальных отечественных изолятов с вакцинным штаммом *Leningrad-3*, в результате чего обнаружены специфические несинонимичные замены в В-клеточных эпитопах гена *HN*, свидетельствующие о процессе антигенной дивергенции вируса.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Расширены и научно обоснованы фундаментальные представления о механизмах поддержания и эволюции возбудителя эпидемического паротита в современных условиях в Российской Федерации, свидетельствующие о формировании скрытых очагов инфекции и локальном накоплении неиммунной прослойки среди населения (в частности, в Северо-Кавказском федеральном округе), что обусловило активизацию эпидемического процесса.

Доказана научная целесообразность мультилокусного филогенетического моделирования, учитывающего некодирующие области генома патогена, что открывает новые подходы к изучению микроэволюции вируса и реализации молекулярно-генетического мониторинга изменчивости возбудителя инфекции в Российской Федерации.

Для молекулярной диагностики эпидемического паротита предложена новая разработка – набор реагентов AmpliSens® *Mumps virus,* позволяющий качественно определять РНК вируса в биологическом материале (мазки со слизистой оболочки ротоглотки) методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Внедрение данной разработки в практическое здравоохранение позволяет выявлять больных эпидемическим паротитом на ранних этапах заболевания, а также с инаппарантными формами инфекции. Разработана методика на основе петлевой изотермической амплификации и предложен алгоритм мультилокусного секвенирования по Сэнгеру, которые в совокупности обеспечивают практические лаборатории надежными инструментами для оперативной информационной поддержки противоэпидемических мероприятий в групповых очагах и составления прогнозов относительно эпидемиологического благополучия населения страны.

На основе применения молекулярно-биологических методов предложены и научно обоснованы направления совершенствования эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита.

Методология и методы исследования

Методологический фундамент работы заложен с опорой на фундаментальные труды отечественных и зарубежных исследователей в полном соответствии с установленной целью и сформулированными задачами. В ходе диссертационного исследования был задействован комплексный подход, объединивший классические приемы эпидемиологического метода (включая описательный и аналитический), а также молекулярно-биологические и статистические методы.

Ретроспективный эпидемиологический анализ динамики заболеваемости паротитной инфекцией в Российской Федерации за десятилетний период позволил выявить ведущие тенденции развития эпидемического процесса.

Особое внимание уделено изучению территориальной неравномерности распределения заболеваемости. Для визуализации регионов с наивысшим уровнем эпидемического неблагополучия использовали элементы картографического анализа. Благодаря сопоставлению интенсивности проявлений эпидемического процесса с демографической структурой заболевших и показателями состояния поствакцинального иммунитета выявлены актуальные группы риска и установлены скрытые детерминанты, поддерживающие циркуляцию возбудителя на эндемичных территориях.

Молекулярно-биологический блок исследования реализован с использованием разработанных методик детекции РНК вируса и филогенетического анализа на основе мультилокусного секвенирования, что обеспечило верификацию генетической структуры популяции патогена.

Результаты обработки и интерпретации полученных данных подробно изложены в соответствующих главах собственных исследований. Итогом проведенной работы стало обобщение научно обоснованных выводов и практических рекомендаций.

Положения, выносимые на защиту

1. Многолетняя динамика эпидемического процесса эпидемического паротита характеризуется цикличностью и выраженной неравномерностью территориальной интенсивности с преимущественным распространением в Северо-Кавказском федеральном округе (особенно, в Республике Дагестан). Продемонстрирована трансформация возрастной структуры заболеваемости, проявившаяся в увеличении доли взрослого населения и «сдвиге» максимальных показателей заболеваемости детского населения в сторону младших возрастных групп (детей 3-6 лет).

2. Результаты молекулярно-генетического мониторинга циркулирующих штаммов вируса эпидемического паротита в Российской Федерации на современном этапе свидетельствуют о доминировании генотипа G (более 85%), в то время как выявляемые случаи заболевания, вызванные вирусом генотипов J и C, представляют собой независимые спорадические завозы возбудителя инфекции из зарубежных государств.

3. Разработан и внедрен в практику комплекс методик на основе ПЦР и петлевой изотермической амплификации для детекции РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале, позволяющий повысить оперативность противоэпидемических мероприятий в очагах за счет раннего выявления лиц со стертой клинической картиной и их своевременной изоляции, обеспечивающей эффективное прерывание цепочек передачи возбудителя.

4. Разработана методика секвенирования вируса эпидемического паротита по методу Сэнгера с использованием новых молекулярных маркеров, включающая одновременный анализ трех быстро эволюционирующих некодирующих областей генома (*NP-NCR, PM-NCR, MF-NCR*) и гена *HN* и обладающая более высоким филогенетическим разрешением по сравнению со стандартным протоколом (локус *SH*).

5. Разработаны и научно обоснованы направления совершенствования эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического

паротита, базирующиеся на применении молекулярно-биологических методов исследования. Их практическая реализация обеспечивает переход от пассивной регистрации заболевших к активному поиску источников возбудителя в очагах путем применения высокочувствительных тест-систем для скрининга контактных лиц и оперативного пресечения распространения возбудителя. Предложенный алгоритм секвенирования вируса эпидемического паротита в системе эпидемиологического надзора позволяет осуществлять мониторинг эволюции патогена и отслеживание путей его передачи в страновом и глобальном масштабе, что является необходимым в условиях реализации программы элиминации инфекции.

Личное участие автора в получении результатов

Автор непосредственно осуществлял планирование, организацию и реализацию всех этапов исследования. На основе углубленного изучения публикаций отечественных и зарубежных исследователей им был проведен комплексный анализ актуальности выбранной проблематики и степени ее теоретической проработанности. Формулирование цели, постановка задач и выбор методологических основ работы проходили при непосредственном участии автора совместно с научным руководителем.

Накопление массива первичных данных реализовано автором самостоятельно в полном объеме. Личный вклад автора выразился в сборе и систематизация данных для оценки уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации. Диссертантом самостоятельно осуществлена разработка методик на основе полимеразной цепной реакции и петлевой изотермической амплификации для выявления РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале, а также разработка методики секвенирования вируса методом Сэнгера с использованием новых молекулярных маркеров.

Совместно с научным руководителем выполнена глубокая аналитическая обработка, статистический обсчет и интерпретация итоговых результатов. Диссертантом самостоятельно осуществлено научное обобщение материала, сформулированы теоретические положения, выводы и рекомендации для практического здравоохранения, а также подготовлены материалы для представления в научных изданиях.

Внедрение результатов исследования

На основе результатов диссертационной работы:

– разработана глава XXXV СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (2025 г.);

– подготовлен проект методических рекомендаций «Генотипирование вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита в эпидемиологическом надзоре» (2026 г.);

– получено регистрационное удостоверение на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации AmpliSens® *Mumps virus*» по ТУ 20.59.52-490-01897593-2025 (регистрационный номер медицинского изделия ЕРУЛ-Г004-00110-00/03870061 от 2 декабря 2025 г.);

– получено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026615608. Российская Федерация. AmpliSens® Mumps virus Soft: № 2026613010: заявл. 10.02.2026 г.: опубл. 26.02.2026 г.;

– получен патент № 2850880 C1 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68. Набор олигонуклеотидных праймеров для выявления РНК вируса эпидемического паротита: 2025125416: заявл. 15.09.2025 г.: опубл. 17.11.2025 г.;

– получено Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2026623191 от 10 июля 2026 г. «База данных последовательностей геномов *Mumps orthorubulavirus* (вирус эпидемического паротита) модуля VGARus (Virus Genome Aggregator of Russia)»;

– в зарегистрированную базу данных модуля VGARus в рамках настоящего исследования депонирована 91 нуклеотидная последовательность.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс и используются в рамках сертификационных курсов тематического усовершенствования специалистов «ПЦР-диагностика инфекционных заболеваний», реализуемых на кафедре эпидемиологии с курсами молекулярной диагностики и дезинфектологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается глубоким аналитическим обзором профильных научных публикаций, находящихся в открытом доступе, а также использованием валидированного комплекса методов сбора информации в рамках государственного статистического наблюдения. Высокая степень обоснованности результатов также опирается на репрезентативный объем проведенных эпидемиологических и молекулярно-биологических исследований с привлечением современных методологических подходов и инструментов статистического анализа.

Материалы и выводы, полученные в ходе подготовки диссертации, были вынесены на обсуждение профессионального сообщества и представлены на ряде конференций:

– Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2024» (Москва, 2024);

– V Международная научно-практическая конференция по вопросам противодействия инфекционным заболеваниям (Санкт-Петербург, 2024);

– Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Проблемы эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных болезней – 2025» (Москва, 2025);

– XII Российский форум биотехнологий «Open BIO» (Новосибирск, 2025);

– VI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2025);

– XVII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Ставрополь, 2025);

– Покровские Чтения V Ежегодная Конференция по инфекционным болезням (Москва, 2025);

– XXIV Ежегодный Конгресс детских инфекционистов России с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (Москва, 2025);

– Конгресс с международным участием «Эпидемиология – 2026» (Москва, 2026);

– Научно-практический семинар «Современные проблемы иммунопрофилактики инфекционных болезней» (Москва, 2026);

– VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2026).

В окончательном виде диссертационная работа апробирована и рекомендована к защите на заседании апробационной комиссии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (протокол №115 от 10 ноября 2026 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.2.2. «Эпидемиология». Результаты проведенного исследования соответствуют

областям исследований: пунктам 2, 5 и 6 паспорта специальности «Эпидемиология».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации по специальности «Эпидемиология».

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа содержит введение, семь глав (обзор литературы и 6 глав собственных исследований), заключения, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список литературы. Диссертация изложена на 164 страницах. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 24 таблицами. Список использованной литературы объединяет 155 наименований, из которых 46 относятся к отечественным, а 109 – к иностранным источникам.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Эпидемический паротит – острое антропонозное инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, общей интоксикацией, поражением слюнных желез, других железистых органов и нервной системы [23, 113, 123, 142].

Симптомы эпидемического паротита впервые были описаны Гиппократом в V веке до нашей эры [140, 143, 144], однако изучение научным сообществом фактически началось только в XVIII веке. В XIX веке случаи заболевания эпидемическим паротитом регистрировались в большинстве стран мира. Многочисленные труды отечественных ученых Н.Ф. Филатова, А.Д. Романовского, И.В. Троицкого, И.А. Бурцева внесли существенный вклад в историю изучения эпидемического паротита, заложив научные основы для дальнейших исследований [23]. Вирусную этиологию данного заболевания впервые установили К.Д. Джонсон и Э.У. Гудпасчер в 1934 году [143].

1.1. Эпидемиологическая характеристика эпидемического паротита в мире и в Российской Федерации

До внедрения массовой вакцинации уровень заболеваемости эпидемическим паротитом варьировался в глобальном масштабе в диапазоне от 100 до 1000 случаев на 100 000 населения. Эпидемические подъемы наблюдались с периодичностью в 2-5 лет. В странах с умеренным климатом наибольшее количество случаев эпидемического паротита фиксировали в зимние и весенние месяцы [79]. Внедрение вакцинации привело к увеличению межэпидемических периодов и значительному уменьшению числа случаев заболевания эпидемическим паротитом, сократив их в 10-20 раз [5]. Эпидемиологические исследования подтвердили корреляцию между уровнем охвата прививками детей в соответствии с установленным графиком и показателями заболеваемости эпидемическим паротитом [23, 46]. До введения массовой вакцинации лидирующую позицию в структуре заболевших занимали дети в возрастной группе

от 2 до 9 лет с пиком заболеваемости в группе от 3 до 6 лет, в связи с чем эпидемический паротит традиционно относили к детским инфекциям. На современном этапе развития эпидемического процесса, начиная с 2010-х годов, наряду с сохранением высоких показателей среди детей младшего возраста, наибольший удельный вес заболевших стал приходиться на группу школьников от 7 до 14 лет [36]. Кроме того, в течение последних десятилетий регистрируется рост удельного веса подростков и лиц молодого возраста, с вовлечением в эпидемический процесс организованных коллективов, в частности студентов [38]. В связи с регистрацией очередного циклического подъема заболеваемости в Российской Федерации в 1992 году, а также опираясь на успешный зарубежный опыт, медицинским сообществом было предложено введение второй дозы вакцины против эпидемического паротита в Национальный календарь прививок [5]. После 1997 г. схема иммунизации стала двухэтапной (первичная вакцинация детей в возрасте 12 месяцев и ревакцинация в возрасте 6 лет)[1]. По данным на январь 2026 года специфическая вакцинация против эпидемического паротита внедрена в 124 странах мира [108].

Публикации Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют, что на протяжении 2024 года глобальное число впервые выявленных пациентов с эпидемическим паротитом достигло 245 032 человек (6,72 на 100 тыс. населения), при этом 12 379 из них (1,46 на 100 тыс. населения) пришлись на Европейское региональное бюро ВОЗ [108]. Общемировая динамика распространения инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита, характеризовалась спадом во время пандемических ограничений, однако в последующем возобновилась тенденция к росту (таблица 1.1).

В разрезе последнего десятилетия наибольший вклад в общую структуру заболеваемости вносился Африканским и Западно-Тихоокеанским регионами, при этом динамика заболеваемости в данных регионах носила разнонаправленный характер. Так, на территории Западно-Тихоокеанского региона в последние годы

[1] О календаре профилактических прививок: Приказ Минздрава РФ от 18.12.1997 № 375.

отмечался устойчивый спад интенсивности эпидпроцесса (снижение показателей с 20,92 на 100 тыс. населения в 2016 году до 6,45 на 100 тыс. населения к 2024 году). Африканский регион продемонстрировал обратную динамику с существенным подъемом заболеваемости с 13,78 на 100 тыс. населения в 2015 году до 76,15 в 2023 году. Позитивные сдвиги отмечены также на территориях Восточно-Средиземноморского региона и Юго-Восточной Азии. Здесь за прошедшие годы распространенность эпидемического паротита резко сократилась: в первом случае – с 30,34 на 100 тыс. населения в 2016 году до 3,78 на 100 тыс. населения в 2024 году, а во втором – с уровня 41,32 на 100 тыс. населения в 2017 году до 6,87 на 100 тыс. населения в 2024 году (рисунок 1.1) [108].

Таблица 1.1 – Заболеваемость эпидемическим паротитом в мире, на 100 тыс. населения

Год	Общемировой показатель заболеваемости	
	абс.	на 100 тыс. населения
2015	385 781	10,11
2016	592 174	15,72
2017	560 784	15,11
2018	502 132	12,81
2019	169 898	8,17
2020	279 270	6,64
2021	241 742	4,34
2022	381 029	7,00
2023	387 529	9,52
2024	245 032	6,72

По абсолютному числу зарегистрированных случаев эпидемического паротита в 2024 году лидировали Китай (92 060 случаев, 6,49 на 100 тыс. населения) и Кения (52 846 случаев, 93,64 на 100 тыс. населения) [108].

В условиях массовой вакцинопрофилактики во многих странах мира был отмечен сдвиг в структуре заболеваемости в сторону более старших возрастных

групп, и по мере увеличения охвата вакцинацией против эпидемического паротита средний возраст заболевших увеличивался до тех пор, пока не был достигнут уровень коллективного иммунитета, достаточный для прекращения эндемичной передачи вируса [128]. Исходя из вышеизложенного, уровень охвата вакцинацией должен быть выше 80%, в противном случае заболеваемость смещается на более старшие возрастные группы с повышенным риском осложнений [111]. Для контроля вспышек в популяциях с высоким уровнем вакцинации, некоторые страны рекомендуют введение третьей дозы вакцины для лиц, относящихся к группам риска [146].

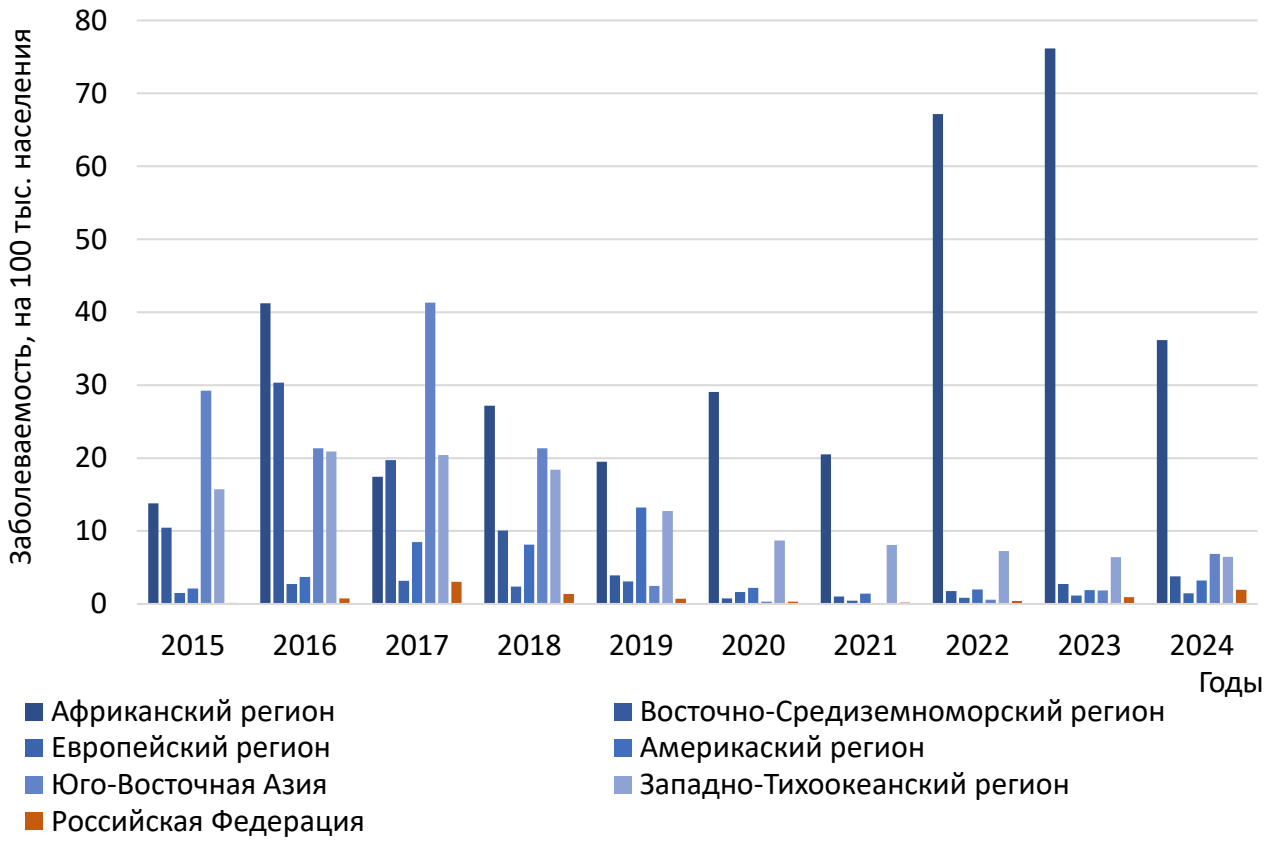


Рисунок 1.1 – Заболеваемость эпидемическим паротитом по регионам ВОЗ, на 100 тыс. населения [108]

В Российской Федерации управление эпидемическим процессом с помощью средств специфической иммунопрофилактики позволило к 2015 году достичь значительного снижения заболеваемости до уровня 0,13 на 100 000 населения [28].

Однако после периода относительного эпидемиологического благополучия, с 2016 г. в нашей стране вновь наблюдается рост заболеваемости эпидемическим паротитом [11, 28]. Распространение эпидемического паротита в Российской Федерации характеризуется значительной неравномерностью. В последние годы порядка 80% от общего числа случаев эпидемического паротита регистрировались на территории Северо-Кавказского федерального округа, при этом основной вклад приходился на Республику Дагестан, и структура заболеваемости в значительной степени обуславливалась сложившейся в данном регионе эпидемиологической обстановкой [14, 20, 39]. Результаты серомониторинга, проведенного в период с 2015 по 2018 гг., показали наличие значительной доли лиц (от 23 до 32,9%), не имеющих иммунитета к эпидемическому паротиту, что вдвое превышает установленные нормы [37]. В частности, в 2018 г. среди студентов г. Махачкалы, в возрастной группе 20 – 29 лет, было выявлено 37% серонегативных лиц [38]. Исследования популяционного иммунитета к вирусу эпидемического паротита, проведенные в Херсонской области и в Москве, также показали недостаточную долю серопозитивных лиц – общая серопревалентность составила 65,7% (95ДИ: 64,0 – 67,5) и 75,25% (95% ДИ: 74,24 – 76,24) соответственно [32, 37]. Кроме того, среди не болевших и не вакцинированных волонтеров отмечена высокая серопревалентность [32], что может свидетельствовать о большом количестве инаппарантных форм эпидемического паротита и недостаточной лабораторной диагностике. Иная ситуация отмечается в некоторых странах Европейского региона ВОЗ, так в Сербии в 2023 году заболеваемость эпидемическим паротитом составила 0,09 на 100 тыс. населения, причем данные по заболеваемости коррелируют с результатами серомониторинга – 85,1% серопозитивных лиц в популяции и 92,6% среди старших возрастных групп [65, 125].

В США, несмотря на полувековой опыт применения вакцин и высокие охваты населения иммунизацией, полной элиминации эпидемического паротита пока не достигнуто. Заболеваемость регистрируется на спорадическом уровне, однако в 2006, 2016-2017, 2020 и 2025 годах отмечены вспышки среди вакцинированных молодых людей, локализованные преимущественно в

студенческих общежитиях [77, 97]. Результаты серологического мониторинга и математические модели дают весьма противоречивые результаты: на индивидуальном уровне 50% людей должны сохранять иммунитет к эпидемическому паротиту на протяжении всей жизни, при этом показано, что 11,77% вакцинированных теряют иммунитет к 18 годам [97]. В исследовании Льюнарда и Града показано, что иммунная защита от эпидемического паротита, обеспечиваемая полным курсом вакцинации (двумя дозами комплексного препарата MMR), ослабевает в среднем через 27 лет (95% ДИ: 16 – 51 год) после введения последней дозы. В условиях высокого охвата иммунизацией возникает эпидемиологический парадокс: большинство случаев заболевания выявлялось среди ранее вакцинированных лиц, поскольку они составляли подавляющую часть населения [97].

Таким образом, глобальное снижение заболеваемости эпидемическим паротитом стало результатом реализации программ вакцинопрофилактики и высокого охвата населения комбинированными препаратами. Вместе с тем, долгосрочное наблюдение за инфекцией в условиях массовой иммунизации поставило новые задачи, требующие модернизации существующих стратегий эпидемиологического надзора и внедрения современных методов молекулярно-генетического мониторинга.

1.2. Этиологическая характеристика эпидемического паротита

Этиологическим агентом эпидемического паротита выступает РНК-содержащий вирус *Orthorubulavirus parotitidis,* входящий в семейство *Paramyxoviridae* (подсемейство *Rubulavirinae*, род *Orthorubulavirus*). Стоит отметить, что до 2022 года в классификации использовались такие наименования, как *Mumps virus, Mumps rubulavirus* и *Mumps orthorubulavirus* [85]. В плане морфологии вирусные частицы обладают сферической либо плеоморфной формой, а их поперечный размер (диаметр) варьируется в пределах от 150 до 250 нм. РНК

вируса одноцепочечная, отрицательной полярности, длиной 15384 пар оснований, кодирует 8 белков: нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), мембранный белок (M), белок слияния (F), малый гидрофобный белок (SH), гемагглютинин-нейраминидаза (HN), полимераза (L); а также неструктурный белок V [36, 43, 95] (рисунок 1.2).

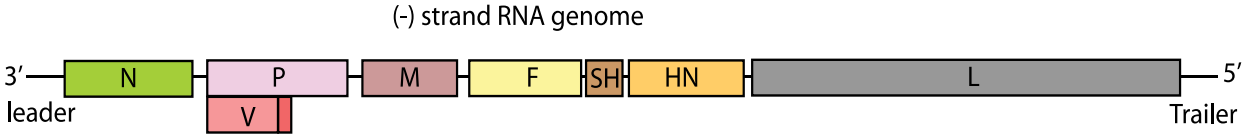


Рисунок 1.2 – Структура генома вируса эпидемического паротита [33].

РНК с нуклеопротеином образует нуклеокапсид спирального типа симметрии. Нуклеопротеин с фосфопротеином образуют инкапсулирующий комплекс (рисунок 1.3).

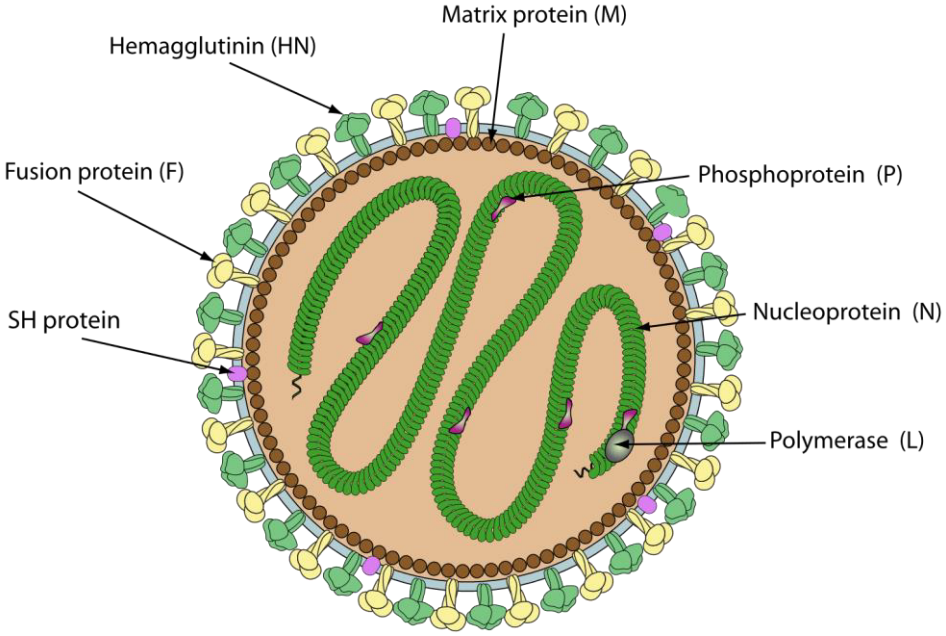


Рисунок 1.3 – Строение вириона *Orthorubulavirus parotitidis* и топография его ключевых белков [33].

Процессы транскрипции вирусных мРНК, равно как и их последующее кэпирование и полиаденилирование, осуществляются под действием \рнк-зависимой РНК-полимеразы. Роль матрицы в данном случае выполняет геномная

РНК возбудителя, находящаяся в тесном комплексе с нуклеопротеином (N), который обеспечивает ее плотную инкапсулированность. При этом инициация процессов происходит за счет связывания вирусной полимеразы непосредственно с геномной РНК в области 3'-лидерного промотора региона, после чего она транскрибирует все вирусные мРНК с уменьшающейся эффективностью. Первый ген транскрибируется наиболее интенсивно, а последний — наименее интенсивно. Вирусный фосфопротеин действует как фактор процессивности. Кэпирование происходит одновременно с инициацией транскрипции мРНК [88, 127]. Вирион окружен двойной липидной мембраной, в которую встроены гликопротеиновые шипы, состоящие из гемагглютинина и белка слияния. Связывание гемагглютинина с рецептором клетки, содержащим сиаловую кислоту, вызывает конформационное изменение, позволяющее F-белку осуществить слияние вириона с клеточной мембраной, инициируя инфекцию. На более поздних стадиях инфекции F-белки инициируют слияние с соседними клетками, оказывая цитопатическое влияние (образование синцитиев, некроз тканей). Активность нейраминидазы (сиалидазы) обеспечивает эффективное распространение вируса путем отделения от гликопротеинов, содержащих нейраминовую кислоту, зрелых вирионов. Гибкость связывания вируса с различными гликанами и использование белков теплового шока человека способствуют системному распространению и репликации вируса. Мембранный белок играет ключевую роль в сборке вируса. Неструктурный белок V образуется в результате РНК-редактирования мРНК P, вместе с малым гидрофобным белком он играет важную роль в подавлении иммунного ответа путем блокирования сигнальных путей интерферонов I и II типа, а также MDA-5 [71, 92, 93]. Белок SH, взаимодействуя с комплексами TNFR1, IL-1R1 и TLR3 в инфицированных клетках, препятствует активации NF-kB и способствует уклонению вируса от иммунного ответа [70].

Вирус эпидемического паротита проявляет гемагглютинирующую, нейраминидазную и гемолитическую активности, а также способность к формированию симпластов; он малоустойчив во внешней среде, легко разрушается нагреванием (при 55-60 ºС в течение 20 минут) и детергентами, чувствителен к

воздействию ультрафиолетом. Вирус устойчив к действию низких температур [16, 23, 45, 73].

1.3. Генетическое разнообразие вируса эпидемического паротита и вакцинные штаммы

В основе дифференциации генотипов вируса эпидемического паротита лежит секвенирование и последующий анализ нуклеотидной последовательности гена, кодирующего малый гидрофобный белок (SH). По данным отчетов ВОЗ, в мире циркулируют 12 генотипов вируса, вариабельность нуклеотидных последовательностей *SH*-гена для разных генотипов составляет от 5 до 20%, для гена NH – до 9% [43, 87]. Данные о глобальном распространении генотипов вируса эпидемического паротита весьма ограничены, поскольку, в отличие от кори и краснухи, в отношении эпидемического паротита не разработаны единые общемировые стандарты мониторинга циркуляции вируса [33, 43]. В последние годы из-за снижения заболеваемости эпидемическим паротитом разнообразие циркулирующих штаммов в мире существенно сократилось, преимущественно выделяются штаммы вируса, относящиеся к генотипу G [9, 19, 56, 66, 72, 91, 103, 131, 133, 139, 145]. Согласно статистическим сведениям международной базы данных GenBank, к январю 2026 года пул депонированных нуклеотидных последовательностей вируса эпидемического паротита насчитывал 13 887 записей. При этом в общей структуре представленного генетического материала превалировал генотип G, к которому относились 11 414 изолятов, в то время как на долю генотипа C приходилась всего 251 запись, а оставшиеся 2222 последовательности распределялись между другими генетическими вариантами, включая вакцинные штаммы и изоляты, не циркулирующие в настоящее время в популяции [108, 114]. Среди нуклеотидных последовательностей вируса эпидемического паротита в GenBank 90% представлены коротким фрагментом (316 нуклеотидов) гена *SH,* но по мнению ряда авторов для уточнения путей передачи

вируса между регионами, более глубокого понимания эволюции вируса и установления смены штаммов в рамках генотипа, циркулирующих на одной территории, необходимо секвенировать также другие фрагменты генома возбудителя или полный геном [53, 54, 63, 72, 75, 76, 86, 90, 91, 149].

Данные о генетическом разнообразии вируса эпидемического паротита крайне неравномерно распределены по регионам: порядка 85% сиквенсов в международных базах данных задепонированы четырьмя странами – США, Канадой, Нидерландами и Испанией, при этом в первых трех странах заболеваемость в последнее десятилетие находится на спорадическом уровне [75, 108, 114]. Вместе с тем, отсутствуют данные о генотипировании вируса эпидемического паротита в странах с низким и средним уровнем дохода, например, в странах Африки, где в последние годы регистрируется высокая заболеваемость.

Однако следует отметить, что тяжесть клинических проявлений не связана с конкретным генотипом вируса; кроме того, большинство вакцинных штаммов получены на основе генотипов A (штамм *Jeryl Lynn* в вакцине «MMR II», *Rit 4385* в вакцине «Приорикс») и N (штамм *Leningrad-3*в паротитной моновакцине, паротитно-коревой дивакцине и тривакцине «Вактривир», а также штамм *L-Zagreb* в тривакцине «Тривэйд»), которые в настоящее время не циркулируют в популяции, однако предполагается, что антитела, формирующиеся после вакцинации, эффективны в отношении всех генотипов вируса, поскольку все известные генотипы принадлежат к одному серотипу [128]. Действие вакцин против эпидемического паротита направлено на стимуляцию иммунного ответа с образованием антител к поверхностным белкам NH и F, которые играют важную роль в процессе адгезии, проникновения и репликации вируса в клетках [11, 69, 71, 151]. В работе авторов из Индии на примере штамма вируса эпидемического паротита, принадлежащего к генотипу C, был проведен анализ мутаций относительно вакцинных штаммов, полученных на основе генотипов A и N, и показано наличие множественных замен во всех генах, при этом анализ консервативности эпитопов выявил лишь незначительные вариации в экспериментально определенных Т-клеточных эпитопах для белков NH и F при

общей стабильности эпитопов [131]. В аналогичных работах авторов из Канады, Бельгии, Нидерландов и США на примере штамма вируса эпидемического паротита, принадлежащего к генотипу G, показаны различия в аминокислотной последовательности и частичное отсутствие перекрестной реактивности между генотипами A и G для белков NH и F, что может свидетельствовать о возможном снижении эффективности вакцины на основе генотипа A, однако необходимо провести дальнейшие исследования для понимания того, каким образом изменения в гликопротеинах влияют на распознавание антител [50, 56, 71, 78, 135]. Исследование [74] показывает, что изменения в сайтах гликозилирования могут влиять на эффективность размножения вируса и тяжесть заболевания. Таким образом вирус эпидемического паротита адаптируется к иммунному давлению в популяции. В работе [68] вопрос мутаций в эпитопах рассматривается через призму взаимодействия вируса с рецепторами. Мутации в гене *HN* могут изменять структуру сайтов связывания. Кроме того, точечные мутации в последовательности белка приводят к появлению новых сайтов N-гликозилирования, делая мутантные штаммы более устойчивыми к нейтрализации. Накопление мутаций в эпитопах создает антигенную дистанцию между дикими и вакцинными штаммами. В систематическом обзоре [62] продемонстрировано, что эффективность вакцины «MMR», содержащей штамм Джерил Линн, в профилактике эпидемического паротита составляет 72% после одной дозы (6 когортных исследований, включавших 9915 детей) и 86% после введения двух доз (5 когортных исследований, 7792 ребенка). В зарубежной литературе также широко представлены данные структурно-функционального анализа белка HN штамма Urabe AM9 (генотип B). В частности, экспериментально доказано влияние точечной мутации E335K в функциональном домене белка HN данного штамма на изменение его конформационных свойств, сродства к сиаловым рецепторам и нейровирулентность [130].

Таким образом данные, свидетельствующие о допустимости прорывной инфекции гетерологичными генотипами у лиц с низким уровнем нейтрализующих

антител вследствие антигенных различий между генотипами вируса, все еще нуждаются в подтверждении [146].

Описано несколько вспышек эпидемического паротита в студенческих коллективах США, Канады, Великобритании, Нидерландов и Южной Кореи с высоким охватом вакцинацией период с 2014 по 2019 год [48, 50, 56, 59, 134, 148]. Эпидемиологическое расследование вспышки эпидемического паротита среди шотландских студентов в 2014-2015 гг. показало, что 62% заболевших были двукратно вакцинированы, методом секвенирования 97% образцов были классифицированы как генотип G, при этом частота осложнений составила всего 5,3% и лишь 1,2% больных были госпитализированы. Авторы соотносят вспышки эпидемического паротита в высоко вакцинированных популяциях с ослаблением иммунной защиты с течением времени и меньшей эффективностью вакцины против некоторых генотипов вируса, вместе с тем вакцины против эпидемического паротита по-прежнему снижают риск осложнений и госпитализаций [148]. Во время вспышки эпидемического паротита среди ранее двукратно вакцинированных американских студентов в штате Айова было принято решение о введении студентам моложе 25 лет дополнительной третьей дозы вакцины «MMR», что позволило на 25% снизить количество случаев заболевания [134]. Крупная вспышка эпидемического паротита в 2015-2016 гг. среди студентов Норвегии показала, что у вакцинированных наблюдался сниженный риск госпитализации (ОР: 0,14, 95% ДИ: 0,03-0,57), осложнений (ОР: 0,21, 95% ДИ: 0,08-0,55) и тяжелого исхода (ОР: 0,25, 95% ДИ: 0,10-0,62); ранее вакцинированным контактным лицам была предложена третья доза вакцины, вследствие чего удалось снизить количество заболевших в очагах [145]. Фиксируемое в последние годы во всем мире широкое распространение штаммов вируса эпидемического паротита генотипа G происходит на фоне снижения иммуногенности коммерческих вакцин, сконструированных на основе генотипов A и N, в связи с чем американскими учеными была создана рекомбинантная вакцина на основе генотипа G. В исследовании [55] продемонстрирована хорошая иммуногенность вакцины на основе генотипа G на мышах, а также показано, что третья доза вакцины на основе

генотипа G после двух доз иммунизации штаммом Джерил Линн значительно увеличивает титры нейтрализующих антител к штамму генотипа G. Разработанная корейскими учеными инактивированная вакцина на основе генотипа F также обладает более высокими, чем Джерил Линн, титрами перекрестной нейтрализации против генотипов F, H и G, а также более значительным ответом цитокинов Th1, IFN-α, TNF-α и IL-2, что было подтверждено в исследовании на животных при введении как в качестве первичной, так и в качестве бустерной дозы [150]. Вакцинация и первая ревакцинация препаратом на основе штамма Джерил Линн в комплексе с второй ревакцинацией препаратом на основе генотипа F обеспечивала более эффективную перекрестную защиту против циркулирующих диких штаммов вируса эпидемического паротита в исследовании на животных [152]. Однако вопрос о смене вакцинного штамма или массовом введении третьей бустерной дозы вакцины против эпидемического паротита в настоящее время остается дискуссионным.

Авторы обзора [59] поднимают вопрос о гармонизации критериев, определяющих иммунологическую защиту от эпидемического паротита, поскольку «защитный титр» IgG для эпидемического паротита до сих пор не определен. Кроме того, нет однозначной корреляции высокого титра IgG и защитой от всех штаммов вируса эпидемического паротита. Таким образом, авторы обзора предлагают оценивать эффективность вакцины против эпидемического паротита не как предотвращение инфекции, а как снижение риска инфицирования и защиту от серьезных последствий, а также защиту тех групп населения, которые по объективным причинам не могут быть вакцинированы.

Генотипирование вируса эпидемического паротита играет важную роль в системе эпидемиологического надзора (включая расследование цепочек передачи возбудителя и верификацию спорадических случаев), а также в совершенствовании тактики вакцинопрофилактики. В условиях растущего объема доступных данных, идентификация групп лиц, связанных друг с другом передачей инфекционной болезни, все чаще опирается на автоматизированные алгоритмы [25]. На примере вспышки в Нидерландах авторы разработали инструменты для визуализации

кластеров эпидемического паротита, основанные на временных, географических и молекулярно-генетических характеристиках изолятов, что позволило ускорить обработку информации и оперативно выявить кластеры передачи вируса [137]. В Российской Федерации подобные работы ранее не проводились, поскольку информация о генетическом разнообразии вируса на территории страны весьма ограничена [43], что диктует объективную потребность в увеличении объемов секвенирования и создании Национальной базы генетических последовательностей вируса эпидемического паротита.

1.4. Клинико-эпидемиологические особенности инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита

Эпидемический паротит представляет собой строго антропонозную инфекцию, при которой источником и резервуаром вируса является исключительно человек. Ведущим механизмом передачи является аэрозольный, реализующийся воздушно-капельным и контактно-бытовым путями; кроме того, доказана возможность трансплацентарной передачи [23]. В качестве ключевых факторов передачи вируса выступают носоглоточный секрет и слюна (в определенных условиях – кровь и моча). С момента заражения до появления первых симптомов (инкубационный период) проходит 11–26 дней (в среднем 15–19 дней). Восприимчивость всеобщая. После перенесенного заболевания формируется стойкий пожизненный иммунитет. Неиммунные лица сохраняют восприимчивость к вирусу эпидемического паротита на протяжении всей жизни. Вспышки заболевания характеризуются медленным и волнообразным распространением [23, 45].

Клиническая картина инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита, отличается значительным разнообразием. Вирус может быть обнаружен в различных биологических жидкостях, включая слюну, кровь, мочу, спинномозговую жидкость и грудное молоко [46]. Индекс контагиозности при

эпидемическом паротите относительно невысок (70-85%), что объясняется слабой выраженностью катаральных симптомов со стороны верхних дыхательных путей и преимущественным распространением возбудителя с крупнокапельным аэрозолем слюны, капли которого быстро оседают на поверхностях и инактивирующиеся во внешней среде под действием физико-химических факторов [23, 46]. Больной считается заразным за 2 дня до появления симптомов и в течение 5-9 дней после их возникновения. Мужчины более восприимчивы к паротитной инфекции [23, 39, 145]. Продромальная фаза непродолжительна и проявляется общей слабостью, утомляемостью, нарушениями сна и аппетита. Первичная репликация вируса происходит в респираторном тракте, первичными клеточными мишенями служат альвеолярные макрофаги [11, 122]. Типичным признаком заболевания является воспаление слюнных, околоушных или подчелюстных желез, которое может быть одно- или двусторонним. Интенсивное размножение вируса в слюнных железах приводит к вторичной виремии, вовлекая тем самым в патологический процесс другие органы и системы и вызывая такие осложнения как орхиты (орхоэпидидимиты) и оофориты, часто приводящие к проблемам с фертильностью в постпубертатном периоде; панкреатиты, нефриты, маститы, тиреоидиты, серозные менингиты, невриты периферических нервов, артриты, миокардиты и эндокардиты [13, 14, 41, 47, 49, 51, 117, 122, 128, 129, 136, 153, 154]. Наиболее частым осложнением со стороны центральной нервной системы является серозный менингит. Данные о частоте встречаемости менингита среди больных эпидемическим паротитом противоречивы, разные авторы называют цифру от 1 до 85%. Пациенты с паротитным менингитом нуждаются в госпитализации, но, как правило, выздоравливают без последствий [26]. Описано клиническое наблюдение семейного очага эпидемического паротита, где из 6 заболевших детей у четверых наблюдалось осложнение в виде серозного менингита и у одного ребенка – в виде панкреатита [40]. У ряда пациентов (примерно в 1 из 1000 случаев), наряду с менингеальными проявлениями, обнаруживаются признаки поражения мозговой ткани, что соответствует менингоэнцефалиту, либо наблюдается изолированное поражение мозгового вещества, классифицируемое как энцефалит. Паротитный

энцефалит, встречающийся с частотой <1% случаев, может привести к летальному исходу или вызвать долгосрочные последствия, такие как судороги, паралич и гидроцефалия [146]. Перенесенный эпидемический паротит является одной из ведущих причин нейросенсорной тугоухости у детей, составляя до 25 % случаев [61]. В условиях недостаточного охвата вакцинацией против кори, краснухи и эпидемического паротита возможны сочетанные инфекции, в работе отечественных авторов представлен клинический случай сочетанного течения (микст-инфекции) кори и эпидемического паротита, протекавший с признаками поражения центральной нервной системы в виде менингита [26]. При атипичном течении эпидемический паротит может характеризоваться неспецифическими симптомами (головная боль, астения, лихорадка) и поражением различных органов и систем (нервная система, поджелудочная железа и др.), при этом может полностью отсутствовать воспаление слюнных желез [47]. Описаны случаи гидроцефалии у детей, обусловленной акведуктальным стенозом, вызванным вирусом эпидемического паротита [58]. Гидроцефалия встречается у 0,1-2,5% новорожденных, однако серологическое исследование врожденного паротита не всегда информативно из-за наличия материнских антител в крови ребенка; в таких случаях предпочтительнее использовать молекулярно-биологические методы [11]. Наряду с классическим поражением слюнных желез, эпидемический паротит характеризуется развитием системных осложнений, включая серозные менингиты, орхиты, оофориты и панкреатиты. Способность возбудителя вызывать изолированные внежелезистые поражения подчеркивает необходимость лабораторной диагностики для подтверждения этиологии при первичном поражении нервной и эндокринной систем [23, 46].

По оценкам ряда исследователей, 20-40% больных переносят эпидемический паротит в инаппарантной (стертой или бессимптомной) форме, выделяя при этом вирус и являясь скрытыми источниками инфекции, обеспечивая тем самым непрерывность эпидемического процесса в обществе на протяжении длительного времени. Важно подчеркнуть, что вакцинированные лица в очагах эпидемического паротита могут переносить заболевание в инаппарантной форме [11]. У

беременных женщин даже бессимптомное течение эпидемического паротита может спровоцировать преждевременные роды или вызвать патологии у новорожденных [23, 45, 126]. Вместе с тем, в отечественной практической медицине врожденные и неонатальные формы инфекции, вызванной вирусом эпидемического паротита, в настоящее время системно не диагностируются и не подлежат официальной регистрации.

1.5. Лабораторная диагностика эпидемического паротита

В довакцинальный период, когда эпидемический паротит был широко распространен, диагноз ставился на основании клинической картины. Однако, симптомы паротита могут быть неотличимы от проявлений, вызванных энтеровирусами, вирусом Эпштейна-Барр, гриппа А, парагриппа, вирусом простого герпеса, аденовирусами, парвовирусом, а также некоторыми бактериями (атипичные микобактерии, стрептококки, золотистый стафилококк). Помимо инфекций, острый паротит может быть вызван неинфекционными причинами, такими как воспаление слюнных желез (сиаладенит), слюннокаменная болезнь (сиалолитиаз), лимфома, мастоидит, зубной абсцесс и реакция на лекарственные средства [11, 23, 95, 99, 101, 126, 132, 138]. В испанском исследовании были проанализированы образцы биоматериала от пациентов с клиническими признаками паротита и отрицательными результатами ПЦР-тестирования на наличие РНК вируса эпидемического паротита; в 51,5% образцов были обнаружены вирусы гриппа А, парагриппа, Эпштейна-Барр, аденовирусы и энтеровирусы, причем в 15,4% случаев наблюдались коинфекции [52]. В исследовании 2025 года, проведенном в Италии, среди ранее вакцинированных пациентов с клиническими признаками эпидемического паротита и отрицательным результатом ПЦР на наличие РНК вируса эпидемического паротита, в 76,2% случаев были выявлены следующие этиологические агенты: вирус гриппа A/H3N2 (87,5%), риновирусы и коронавирусы [57]. Авторы из Южной Кореи также выявили

в образцах от пациентов с подозрением на эпидемический паротит риновирусы, вирусы герпеса 6 типа, бокавирус, цитомегаловирус, вирусы Эпштейна-Барр и парагриппа [99]. В США в последнее десятилетие также были описаны случаи паротита, не связанного с вирусом эпидемического паротита, в качестве этиологического агента наиболее часто выступали вирусы гриппа A/H3N2, герпеса 6 типа (HHV6B) и вируса Эпштейна-Барр, реже встречались вирусы парагриппа, аденовирусы, вирусы простого герпеса (HSV1 и HSV2) [64]. В Белоруссии при исключении диагноза «Эпидемический паротит» с помощью молекулярных методов выявляли генетический материал следующих вирусов: Эпштейна-Барр, цитомегаловируса, энтеровируса [9]. Клинические случаи, описанные рядом авторов, указывают на то, что в условиях спорадической заболеваемости возможна не только гипердиагностика эпидемического паротита, но и, напротив, более поздняя постановка диагноза, особенно у взрослых пациентов, первично обращающихся к стоматологам, урологам и хирургам. Подобная ситуация задерживает своевременную диагностику и лечение [2, 15, 35, 44].

В период массовой вакцинопрофилактики на передний план вышли лабораторные исследования, что особенно важно для своевременной диагностики и выявления бессимптомных случаев. Для лабораторного подтверждения диагноза «Эпидемический паротит», Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует использовать следующие методы: изоляция вируса из биологических образцов (редко применяется в рутинной практике), определение вирусной РНК методом обратно-транскриптазной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) или выявление специфических иммуноглобулинов к вирусу эпидемического паротита (в частности, выявляют иммуноглобулины класса М (IgM) или проводят анализ парных сывороток для определения достоверного прироста концентрации специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) в серологических тестах на основе иммуноферментного анализа (ИФА)) [147].

В нормативных документах Российской Федерации (СанПиН 3.3686-21) для выявления эпидемического паротита в лабораторных условиях описан только серологический метод. Общепринятым и основным тестом является выявление

антител IgM. В клинических рекомендациях оказания медицинской помощи детям больным эпидемическим паротитом (подготовленных ФГБУ НИИДИ ФМБА России в 2015 году, но еще не утвержденных Министерством Здравоохранения) метод ПЦР-диагностики упоминается, но описан в минимальном объеме. При этом, в настоящее время не существует утвержденного стандарта диагностики эпидемического паротита у взрослых пациентов [11].

Несмотря на высокие показатели диагностических характеристик наборов [35], метод иммуноферментного анализа (ИФА) имеет определенные ограничения. Существует вероятность получения ложноположительных результатов, обусловленных аутоиммунными заболеваниями, такими как сиаладенит или туберкулез, а также некоторыми вирусными инфекциями, включая парагрипп и грипп А [126]. Кроме того, в первые два дня с момента появления симптомов эпидемического паротита лабораторная диагностика затруднена из-за так называемого «серологического окна», титр IgM увеличивается постепенно, начиная с третьего дня. Анализ парных сывороток для выявления существенного (не менее чем в четыре раза) увеличения титра IgG-антител предполагает двукратный забор проб, при этом выдача результатов происходит после выздоровления пациента. Следовательно, серологическая диагностика паротита носит ретроспективный характер и из-за ограничений метода не позволяет установить этиологию во всех случаях заболевания [11].

При оценке напряженности иммунитета к повторному заражению базовым критерием выступает так называемый «защитный титр». Если количество выявленных IgG-антител превышает данный показатель, обследуемый человек считается защищенным при возможном контакте с патогеном. Этот принцип успешно используется для ряда инфекций, например, для кори и краснухи. Однако, для эпидемического паротита корреляция между концентрацией антител и реальной защищенностью изучена не до конца. Ситуация осложняется тем, что в глобальной лабораторной практике в настоящее время отсутствует общепринятый международный стандартный образец сыворотки, необходимый для точной и воспроизводимой количественной оценки IgG-антител [59].

Во многих странах мира для выявления эпидемического паротита применяют молекулярно-биологические методы диагностики [11]. Группа исследователей в 2000 году впервые доказала применимость метода nested PCR для детекции РНК вируса эпидемического паротита в пробах спинномозговой жидкости [124]. В течение следующих двадцати лет в Великобритании, Испании, Китае, Нидерландах, Турции и Казахстане были созданы и сертифицированы коммерческие наборы реагентов, предназначенные для диагностики эпидемического паротита на основе ОТ-ПЦР [30]. Авторы из Нидерландов с помощью молекулярных методов оценили вирусную нагрузку в разных типах биоматериала от ранее вакцинированных и невакцинированных больных эпидемическим паротитом и сравнили с клиническими данными: у вакцинированных наблюдалось более легкое течение заболевания, в то время как у невакцинированных чаще наблюдалось тяжелое течение заболевания с системным распространением вируса и более высокой вирусной нагрузкой, достоверно чаще вирус определялся не только в слюне, но и в моче; кроме того, у невакцинированных чаще развивались орхиты и выделение вируса происходило дольше; таким образом, авторами показано, что пациенты с системными осложнениями эпидемического паротита представляют более высокий риск передачи вируса [80]. В исследовании канадских авторов определялась ценность лабораторных методов для диагностики эпидемического паротита. Методом ОТ-ПЦР в мазках со слизистой оболочки щеки РНК вируса эпидемического паротита была обнаружена в 90% образцов, в то время как в моче вирусная РНК детектировалась в 43% случаев; доля положительных результатов IgM-антител варьировала от 32% у ранее вакцинированных пациентов до 64% у не вакцинированных. Таким образом, авторами было показано, что в частично вакцинированной популяции наибольшую диагностическую эффективность имеет обнаружение РНК вируса эпидемического паротита в мазках со слизистой оболочки щеки, и методы лабораторных исследований необходимо выбирать не только в зависимости от времени обращения пациента за медицинской помощью, но и его вакцинального анамнеза [78]. В аналогичном исследовании при сравнении

методов лабораторной диагностики эпидемического паротита было показано, что наибольшей эффективностью обладает метод ОТ-ПЦР, с помощью которого было получено в 3,6 и 1,2 раза больше положительных образцов по сравнению с серологическим и культуральным методами соответственно [98]. Во время вспышки эпидемического паротита в 2013 году во Франции среди лабораторно подтвержденных случаев 83% пришлось на метод ПЦР и только в 45% случаев были получены положительные или сомнительные результаты ИФА на IgM [102].

Метод ОТ-ПЦР рутинно используют для диагностики эпидемического паротита в США, Канаде, Великобритании, Германии, Италии, Швеции, Швейцарии, Австралии, Китае и Южной Корее [82, 104, 105, 106, 107, 109, 121, 155]. В нормативных документах ВОЗ и CDC мазки со слизистой оболочки ротоглотки, наряду с мочой, служат базовым диагностическим материалом для постановки ОТ-ПЦР при подозрении на эпидемический паротит, поскольку в них концентрация вируса максимальна. В первые три дня от момента начала заболевания в биологическом материале пациентов определяют вирусную РНК с помощью молекулярно-биологических методов, с 3 по 10 день исследования проводятся как с помощью молекулярно-биологических, так и серологических методов, по истечении десяти дней применение молекулярно-биологических методов становится нецелесообразным [147].

В последние годы, благодаря разработке новых мутантных форм ферментов, таких как BST-полимераза, значительное развитие получили методы изотермической амплификации, представляющие собой еще одну группу молекулярных методов [12]. В частности, метод петлевой изотермической амплификации (LAMP) дает возможность оперативно (за 20-40 минут) выявлять РНК вируса эпидемического паротита в образцах биологического материала. Благодаря скорости, простоте применения и возможности бесприборной детекции, этот метод широко применяется для первичной диагностики инфекционных заболеваний на площадках проведения массовых мероприятий, в аэропортах, на вокзалах, а также «у постели больного» [11].

В 2000 году японские исследователи впервые представили методику в формате LAMP для выявления эпидемического паротита, но, несмотря на это, предложенная технология долгое время не находила применения в клинической диагностике [118].

В дополнение к этиологической диагностике, молекулярные методы используются в случае необходимости дифференциации циркулирующих в популяции диких генотипов возбудителя от штаммов, входящих в состав вакцин. Это важно при проведении эпидемиологического расследования, поскольку клиническая картина поствакцинального осложнения может быть похожа на клиническую картину эпидемического паротита, вызванного естественным заражением [11].

В 2008 г. отечественными учеными была продемонстрирована возможность дифференциации циркулирующих диких и вакцинных вариантов вируса эпидемического паротита с помощью метода ПЦР [17], однако подобные тесты на территории Российской Федерации до сих пор не производятся. Дифференциация диких и вакцинных штаммов вируса в настоящее время осуществляется методом секвенирования по Сэнгеру, который по сравнению с ПЦР является более дорогим, длительным и трудоемким.

С целью улучшения этиологической диагностики вирусных энцефалитов были разработаны мультиплексные методики, основанные на ПЦР. Эти методики позволяют одновременно обнаруживать фрагменты нуклеиновых кислот различных возбудителей: вируса эпидемического паротита, энтеровируса, вируса ветряной оспы, цитомегаловируса, вируса простого герпеса типов 1 и 2, вируса Эпштейна-Барр и вируса герпеса человека 6 типа [11, 100].

При создании методик для обнаружения РНК вируса эпидемического паротита на основе амплификации нуклеиновых кислот, решающим фактором является степень консервативности участка генома вируса, с которым взаимодействуют диагностические олигонуклеотиды. При этом, для ПЦР достаточна минимальная длина консервативной последовательности в 60 нуклеотидов, в то время как для петлевой изотермической амплификации (LAMP)

необходимы более протяженные области генома (160-250 нуклеотидов) [11]. У вируса эпидемического паротита скорость накопления нуклеотидных замен невысокая – $9,1*10^{-4}$ на основание в год, но важно отметить, что эта величина сильно варьируется для в зависимости от участка генома. В частности, ген SH демонстрирует гораздо более высокую скорость эволюции ($1,6*10^{-3}$ замен на основание в год) [60]. У представителей семейства *Paramyxoviridae* наиболее консервативным является ген, кодирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу (L); однако, количество синтезируемой РНК уменьшается от 3`- к 5`-концу геномной последовательности [11]. Анализ генетической изменчивости вируса эпидемического паротита с использованием секвенирования нового поколения (NGS) помогает улучшить существующие диагностические тесты [63].

Таким образом, в современных условиях во многих странах мира диагноз «Эпидемический паротит» должен быть лабораторно подтвержден с помощью молекулярно-биологических методов, что позволяет избежать как гипердиагностики (случаи паротита, не связанного с вирусом эпидемического паротита), так и гиподиагностики (выявление инаппарантных форм в очагах).

1.6. Эпидемиологический надзор за эпидемическим паротитом

Стратегической задачей системы управления эпидемическим процессом эпидемического паротита, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, является достижение и поддержание спорадического уровня заболеваемости [111]. В странах с низким и средним уровнем дохода сохраняется эндемичная циркуляция эпидемического паротита ввиду недостаточного охвата вакцинацией и доступа к медицинской помощи. Анализ заболеваемости на глобальном и региональном уровнях предоставляет бесценную информацию об эффективности программ вакцинации и влиянии вспышек эпидемического паротита на общественное здравоохранение [47]. В глобальной стратегии ВОЗ на 2022-2032 годы особое место отведено внедрению молекулярных подходов. Этот документ

регламентирует выстраивание международной системы молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями инфекций, способных спровоцировать крупные вспышки и пандемии. Эксперты подчеркивают, что инициативы по элиминации отдельных инфекций открывают новые перспективы для применения секвенирования генома патогенов на уровне стран и внедрения молекулярно-генетического мониторинга в систему эпидемиологического надзора, а также в действующие государственные программы здравоохранения [7].

Вспышки эпидемического паротита отличаются длительным волнообразным течением, что приводит к увеличению расходов на реализацию санитарно-противоэпидемических мероприятий. В США стоимость одного случая эпидемического паротита оценивается в 9 459 долларов, включая прямые медицинские расходы и потери производительности [120]. В нашей стране средневзвешенная величина прямого ущерба от случая заболевания эпидемическим паротитом составила 57 496, 19 руб. в стоимостных показателях 2019 года [21]. Внутренняя статистика Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека указывает на серьезное экономическое бремя заболевания. В актуальном отчетном докладе ведомства зафиксировано: в 2024 году совокупные финансовые потери государства от этой инфекции превысили 132 миллиона рублей [11, 23, 28].

Следует отметить, что в 26 странах мира случаи эпидемического паротита не подлежат обязательному учету. Кроме стран Африки и Азии, в этот список входят такие Европейские страны как Австрия, Лихтенштейн и Швейцария. Во Франции и Японии эпидемиологический надзор за эпидемическим паротитом осуществляется в дозорной форме. Наряду с этим, в большинстве развитых стран структура надзора базируется на пассивном мониторинге заболеваемости и обязательной верификации очагов в сети национальных референс-лабораторий [67, 112].

В ответ на снижение охвата иммунизацией и рост заболеваемости корью и эпидемическим паротитом в некоторых странах мира вакцинация против кори, краснухи и эпидемического паротита стала строго обязательной. В Италии с 2017

года подтверждение вакцинации требуется для посещения детских садов и школ. В США требования обязательной вакцинации варьируются от штата к штату [134]. В Австралии используются не ограничительные меры для непривитых, а поощрение родителей за полный курс вакцинации детей. В Германии с 2020 года действует закон об обязательной вакцинации от кори групп риска – детей в детских садах и школах, работников образовательных и медицинских учреждений, беженцев. Лица, рожденные до 1970 года, считаются иммунными. Поскольку вакцинация обычно осуществляется комбинированным препаратом MMR, привитые лица оказываются защищены и от эпидемического паротита [89]. Вакцинация против эпидемического паротита входит в график иммунизации детей в Канаде, однако только в двух провинциях является обязательной для посещения школы. Примечателен опыт Финляндии в элиминации эпидемического паротита. Согласно Национальной программе прививок, дети получают комбинированную вакцину MMR в возрасте 12-18 месяцев и 6 лет. Вакцинация юридически не является обязательной, но благодаря гражданской ответственности населения уже к 1999 году удалось добиться высокого охвата иммунизацией и практически полного исчезновения заболевания на территории страны, где за четверть века было зарегистрировано всего 82 случая эпидемического паротита [108].

С целью оптимизации качества профилактической работы и противоэпидемического обеспечения в пределах Российской Федерации организована система эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом, обеспечивающая возможность комплексного динамического слежения за эпидемическим процессом. Целью данной системы является снижение заболеваемости эпидемическим паротитом до спорадического уровня и последующая его элиминация. Согласно СанПиН 3.3686-21[2] и МУ 3.1.2.4075-24[3],

---

[2] Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней: санитарные правила и нормы: [утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28.01.2021 № 4: изм. от 25.06.2025 № 12].

[3] Инфекции дыхательных путей. Эпидемиологический надзор за корью, краснухой и эпидемическим паротитом: методические указания: [утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 25.12.2024]. – Москва: Роспотребнадзор, 2024. – 48 с.

эпидемиологический надзор за эпидемическим паротитом включает в себя: динамическое слежение за заболеваемостью и иммунологической структурой населения, а также молекулярно-генетическое типирование циркулирующих на территории страны штаммов вируса.

В основе современной методологии эпидемиологического надзора лежит сформулированная В.Д. Беляковым (1985 г.) теория саморегуляции паразитарных систем [3, 4]. Данная концепция объясняет волнообразный характер течения эпидемического процесса внутренней неоднородностью (гетерогенностью) популяций хозяина и циркулирующего патогена. Фундаментом для осмысления ключевых механизмов развития эпидемического процесса также послужили классические учения отечественной науки. В их числе – разработанная Л.В. Громашевским в 1941 году теория механизма передачи возбудителей инфекций [8], сформулированное Е.Н. Павловским (1939 г.) учение о природной очаговости инфекционных болезней [29], а также социально-экологическая концепция Б.Л. Черкасского (1988 г.) [42]. Изучению эпидемиологических аспектов эпидемического паротита посвящены работы отечественных ученых В.М. Болотовского, И.Н. Лыткиной, М.А. Селимова, Н.Т. Тихоновой, И.Л. Шаханиной, Н.В. Юминовой и ряда других. Многочисленные исследования И.В. Михеевой посвящены изучению особенностей распространения вируса эпидемического паротита в условиях плановой иммунизации населения, где центральное место в анализе отведено механизмам формирования очагов инфекции в детских коллективах с различным уровнем иммунной защиты. И.В. Михеева с соавт. показали влияние многочисленных факторов на эффективность живой паротитной вакцины, а также подтвердили роль стертых и бессимптомных форм в распространении инфекции. На основе этих данных были систематизированы подходы к управлению эпидемическим процессом, направленные на полное искоренение эпидемического паротита. Все вышеперечисленное в совокупности позволило разработать единую комплексную стратегию противодействия кори, краснухе и эпидемическому паротиту [18, 20, 22, 24].

Современные подходы к эпидемиологическому надзору требуют разработки и внедрения новейших технологий в практику надзорных и мониторинговых служб. К таким технологиям, в том числе, относят методы амплификации нуклеиновых кислот. Пандемия *COVID-19* резко увеличила во всем мире спрос на разработку быстрых и надежных методов диагностики. Эта глобальная тенденция в обозримом будущем, по всей видимости, будет только набирать обороты. Комплексный анализ эпидемиологической ситуации требует использования разнообразных диагностических подходов, при этом приоритетной задачей для обеспечения биологической безопасности Российской Федерации является полная локализация этапов разработки и производства диагностических инструментов, что гарантирует защиту национальных интересов, позволяя своевременно реагировать на биологические угрозы [1, 27].

Таким образом, сложившаяся система эпидемиологического надзора позволяет контролировать эпидемический процесс эпидемического паротита. Однако, в целях совершенствования системы эпидемиологического надзора, повышения эффективности проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий в отношении эпидемического паротита необходимо активно внедрять в практику современные высокочувствительные методы диагностики возбудителя инфекции, что подчеркивает важность данного диссертационного исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение диссертационного исследования осуществлялось на базе Центра разработки, развития продукции и инноваций в период с 2024 по 2026 гг. в рамках реализации утвержденного плана научно-исследовательских работ Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в рамках НИР АААА-А21-121011890132-1 «Эпидемиологическая и социально-экономическая оценка эффективности расширения национального календаря профилактических прививок» (2021-2025 гг.) и НИР 1025030400101-9 «Научно-методологическое обеспечение молекулярно-генетического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за возбудителями инфекционных заболеваний с использованием молекулярно-биологических и биоинформатических технологий» (2026-2030 гг.).

Исследование носило комплексный характер и включало в себя эпидемиологический, молекулярно-биологические и статистические методы, представленные в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Общая характеристика материалов и методов исследования

Направление исследования	Характеристика материалов	Типы и методы исследования	Количество
Оценка динамики уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом на территории Российской Федерации	Случаи заболевания населения (за период 2015-2024 гг.)	Эпидемиологический (ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование); статистический (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics)	14 266 случаев
	Данные формы Федерального статистического наблюдения №1 «Сведения об		130 форм

Направление исследования	Характеристика материалов	Типы и методы исследования	Количество
	инфекционных и паразитарных заболеваниях» (ежемесячные и годовые за период 2015-2024 гг.), включающие показатели в целом по Российской Федерации		
	Форма Федерального статистического наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые за период 2015-2024 гг.), включающие показатели в целом по Российской Федерации, по всем федеральным округам, а также по отдельным субъектам		10 форм

Направление исследования	Характеристика материалов	Типы и методы исследования	Количество
	Форма №23 Отраслевого статистического наблюдения «Сведения о вспышках инфекционных и паразитарных заболеваний» (за период 2015-2024 гг.)		10 форм
	Форма Федерального статистического наблюдения №5 «Сведения о профилактических прививках» (годовые за период 2015-2024 гг.)		10 форм
	Форма Федерального статистического наблюдения №6 «Сведения о контингентах детей, подростков и взрослых, привитых против инфекционных заболеваний» (годовые за период 2015-2024 гг.)		10 форм
Изучение генетического разнообразия	Биологический материал – мазки со слизистой оболочки	Молекулярно-биологические (ПЦР, секвенирование)	460 исследований

Направление исследования	Характеристика материалов	Типы и методы исследования	Количество
возбудителя эпидемического паротита, циркулирующего на территории Российской Федерации	ротоглотки, сыворотка крови, моча от пациентов с подозрением на эпидемический паротит		
Разработка методик на основе полимеразной цепной реакции и петлевой изотермической амплификации для выявления РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале и оценка их эффективности	Биологический материал – мазки со слизистой оболочки ротоглотки, сыворотка крови, моча от пациентов с подозрением на эпидемический паротит и условно-здоровых доноров	Молекулярно-биологические (LAMP, ПЦР, секвенирование)	1620 исследований
Разработка методики секвенирования вируса эпидемического паротита методом Сэнгера с использованием новых молекулярных маркеров	Биологический материал – мазки со слизистой оболочки ротоглотки, сыворотка крови, моча от пациентов с подозрением на эпидемический паротит	Молекулярно-биологические (LAMP, ПЦР, секвенирование)	200 исследований
Научное обоснование направлений совершенствования эпидемиологического надзора за инфекцией,	Систематизированные и обобщенные данные, накопленные в ходе предшествующих этапов исследования	Эпидемиологический (описательное исследование)	-

Направление исследования	Характеристика материалов	Типы и методы исследования	Количество
вызванной вирусом эпидемического паротита, на основе молекулярно-биологических методов			

Для проверки аналитической специфичности разработанных методик на основе ОТ-ПЦР-РВ и ОТ-ИТ использовали ДНК/РНК, выделенные из штаммов гетерологичных микроорганизмов и клинических образцов (в концентрации 10^4-10^9 копий/мл), а также ДНК человека (в концентрации 10 мкг/мл).

Для определения диагностических характеристик и оценки эффективности разработанных методик использовали биологический материал пациентов как с установленным, таки с предварительным диагнозом эпидемический паротит, а также клинически здоровых лиц и пациентов с соматической патологией без признаков острой инфекции. Сбор образцов биоматериала проводили на базе двух профильных учреждений: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва), а также ГБУ РД «Республиканский центр инфекционных болезней, профилактики и борьбы со СПИДом им. С.М. Магомедова» (г. Махачкала). Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. От всех пациентов или их законных представителей было получено письменное добровольное информированное согласие на сбор биоматериала и использование данных в научных целях.

Эпидемиологический метод

Теоретическая основа диссертации сформирована на базе фундаментальных трудов отечественных ученых-эпидемиологов, среди которых ключевое место занимают концепции В.Д. Белякова [3, 4], В.И. Покровского [31, 45], Б.Л. Черкасского [42] и Н.И. Брико [6]. В рамках выбранной методологии прикладной анализ осуществлялся с привлечением инструментов классического

эпидемиологического метода, реализованного через аналитический и описательно-оценочный подходы.

Для оценки эпидемиологической ситуации по эпидемическому паротиту в Российской Федерации проведено ретроспективное дескриптивное сплошное эпидемиологическое исследование. Информационной базой для проведения работы послужили данные форм федерального статистического наблюдения. Подробному анализу подверглись официальные показатели учета заболеваемости, регламентированные формами отчетности № 1 и № 2 («Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»). Детально проанализирована многолетняя заболеваемость эпидемическим паротитом в Российской Федерации в период с 2015 по 2024 годы. Изучены такие ключевые параметры и характеристики эпидемического процесса, как многолетняя динамика, уровень и территориальное распределение заболеваемости, возрастная структура заболевших, сезонность и очаговость.

Эпидемиологический анализ проводился как в масштабах всей страны, так и в разрезе отдельных субъектов, продемонстрировавших наиболее выраженное эпидемическое неблагополучие (на примере Республики Дагестан). Особое внимание в рамках описательно-аналитического этапа было уделено оценке количественных характеристик очаговости в эпидемическом процессе с анализом условий формирования групповых и спорадических очагов. Кроме того, методология исследования предусматривала проведение ретроспективного анализа уровня охвата населения своевременной специфической вакцинопрофилактикой эпидемического паротита и оценку его влияния на динамику заболеваемости в стране.

В ходе обработки полученных данных рассчитывали общепринятые в эпидемиологической практике интенсивные (уровень заболеваемости) и экстенсивные (структура заболеваемости) показатели. Для определения интенсивности эпидемического процесса рассчитывали заболеваемость эпидемическим паротитом на 100 тыс. населения в рамках изучаемого временного интервала с применением математического выражения:

$$\text{Заболеваемость} = \frac{\text{Число подтвержденных случаев}}{\text{Численность населения}} \text{ x } 100\,000 \quad (2.1)$$

Визуализация и расчет линии тренда выполнены с помощью программного обеспечения Microsoft Excel. Линия тренда построена по формуле:

$$y = ax + b, \quad (2.2)$$

где a – коэффициент наклона линии аппроксимации;

x– нумерация временных отрезков наблюдения;

b – ожидаемый показатель заболеваемости, согласно уравнению аппроксимации (при x = 0).

Величину абсолютного прироста или убыли определяли путем вычисления разности между последующим и предыдущим уровнями заболеваемости (в пересчете на 100 тыс. населения). Оценка динамики роста/снижения базировалась на отношении последующего показателя к предыдущему, который принимался за 100%. В свою очередь, для определения темпов прироста/убыли заболеваемости рассчитывали отношение полученного абсолютного изменения к исходному уровню за прошлый период, выраженное в процентах.

Молекулярно-биологический метод

Выполнение лабораторных исследований осуществлялось в строгом соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим

микроорганизмы I–IV групп патогенности»[4] и СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Взятие, транспортировку и хранение биологического материала для ПЦР-диагностики осуществляли согласно методическим рекомендациям[5].

Экстракцию нуклеиновых кислот проводили с помощью комплектов реагентов «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147 от 24 мая 2024 года) и «МАГНО-сорб» (РУ № ФСР 2010/07265 от 19 декабря 2024 года) производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора согласно инструкции производителя.

Разработка и оптимизация методик на основе ОТ-ПЦР-РВ и ОТ-ИТ реализована автором в Центре разработки, развития продукций и инноваций ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. План проекта предусматривал описание входных данных проектирования и разработки, подбор специфичных олигонуклеотидов, планирование и проведение серии экспериментов по подбору оптимальных условий реакции и концентраций реагентов, а также проведение лабораторных испытаний.

Дизайн олигонуклеотидов (специфичных праймеров и флуоресцентно-меченого зонда) для идентификации РНК вируса эпидемического паротита осуществлялся по результатам выравнивания и сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей, представленных в международной базе данных NCBI [114], с помощью онлайн-инструментов BLAST [141], Oligo Analyzer Tool Version 3.1 [119] и NEB LAMP [115]. Олигонуклеотидные праймеры и зонд синтезированы в Отделе олигосинтеза ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Клонирование контрольных образцов выполнено в Лаборатории биотехнологии и молекулярной биологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

---

[4] Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 51 с.

[5] Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации / Домонова Э.А., Творогова М.Г., Подколзин А.Т. [и др.]. Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. – 112 с.

Амплификацию в форматах ОТ-ПЦР-РВ и ОТ-ИТ осуществляли с применением оборудования роторного и планшетного типов, поддерживающего регистрацию флуоресценции в реальном времени: RotorGene Q («Qiagen», Германия), CFX 96 («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США), ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Валидация, включающая определение диагностических и аналитических параметров разработанных методик, выполнялась на основании требований национальных стандартов ГОСТ Р 53079.1-2008 [6] и ГОСТ Р 53022.2-2008 [7] с применением следующих математических выражений:

$$\text{Чувствительность} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛО}} \tag{2.3}$$

$$\text{Специфичность} = \frac{\text{ИО}}{\text{ИО} + \text{ЛП}} \tag{2.4}$$

где ИП — истинно положительные результаты (количество проб с подтвержденным наличием мишени как по результатам оригинальной методики, так и по данным референсного секвенирования), ЛО — ложноотрицательные результаты (количество образцов, показавших отрицательный результат при тестировании новой системой, но признанных положительными в ходе секвенирования), ИО — истинно отрицательные результаты (число образцов, определенных как отрицательные обоими сопоставляемыми методами), ЛП – ложноположительные результаты (число образцов, определенных как

[6] Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 1. Правила описания методов исследования. — Москва: Стандартинформ, 2009. — 11 с.

[7] Технологии лабораторные клинические. Часть 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность). — Москва: Стандартинформ, 2009. — 39 с.

положительные с помощью разработанной методики при их фактической негативности по итогам секвенирования).

Метод прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей (по Сэнгеру). Выделение вирусной РНК из клинических образцов осуществляли с помощью комплектов реагентов «РИБО-преп» либо «МАГНО-сорб». Последующий этап обратной транскрипции выполняли с использованием комплекта «Реверта L» (все реагенты – производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Процедуры выполнялись по стандартным протоколам, рекомендованным разработчиком. Для проведения амплификации целевого участка гена *SH* использовали праймеры, описанные J.Y. Lee et al.: SH1 (5' – AGTAGTTGTCGATGATCTCAT – 3') и SH2 (5' –GCTCAAGCCTTGATCATTGA – 3') [96]. Амплификацию остальных локусов проводили с помощью панели праймеров, разработанной автором. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза в 1,7% агарозном геле с использованием буфера ТАЕ и бромистого этидия. Разделение проводили в камере SE-1 («Хеликон», Россия) при постоянном напряжении 80 В. Для определения размеров ДНК применяли маркеры производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Фрагментное секвенирование выполнялось с использованием набора реагентов «BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit». Капиллярный электрофорез и расшифровка последовательностей выполнялась с помощью генетического анализатора «ABI 3500xL Genetic Analyzer» компании «Applied Biosystems» (США) сотрудниками Лаборатории биотехнологии и молекулярной биологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Первичная обработка данных секвенирования, сборка контигов и выравнивание последовательностей фрагментов относительно референсного генома осуществлялась автором в программе MEGA X [94]. Валидация полученных нуклеотидных последовательностей и определение генетического родства с депонированными ранее изолятами проводились методом локального выравнивания с помощью алгоритма BLAST [141].

Статистический метод

Оценка динамических изменений уровней заболеваемости строилась на базе использования критерия χ^2 Пирсона. Вывод о статистической существенности различий делался по результатам сравнения экспериментального значения χ^2 с эталонным (критическим) из математических таблиц. При этом во внимание принималось количество степеней свободы, а критический порог фиксировался на уровне значимости $p < 0{,}05$.

Систематизация данных, расчет доверительных интервалов, ошибок репрезентативности, средних и относительных величин, а также графическая визуализация выполнялись на базе программных пакетов Microsoft Office Excel и IBM SPSS Statistics v. 28.0.1.

ГЛАВА 3. ДИНАМИКА УРОВНЯ И СТРУКТУРЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ПАРОТИТОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Внедрение массовой специфической вакцинопрофилактики эпидемического паротита, осуществляемой в Российской Федерации с 1980 г. в однодозном формате и с 1998 г. в двудозном формате, существенно скорректировало характер течения эпидемического процесса данной инфекции, способствовав уменьшению показателей заболеваемости в несколько раз. Тем не менее, вслед за этапом относительного благополучия, начиная с 2016 года, наметилась выраженная тенденция к росту заболеваемости эпидемическим паротитом.

3.1. Динамика уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом на территории Российской Федерации

Характеристика эпидемической ситуации по эпидемическому паротиту в Российской Федерации охватывала период 2015–2024 гг. и включала в себя аналитическую оценку уровня, структуры, а также территориального распределения заболеваемости населения с опорой на государственную статистику. Из отчетных материалов формы № 2 Федерального статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» следует, что в течение указанного периода внутри страны ежегодно фиксировали до 4443 фактов заражения. Итоги долговременного мониторинга за данный временной интервал свидетельствуют об относительной стабилизации интенсивности эпидпроцесса на территории Российской Федерации.

На протяжении анализируемого периода показатели заболеваемости эпидемическим паротитом варьировались в пределах от 0,13 до 3,03 на 100 тыс. населения в 2015 и 2017 гг., соответственно, среднемноголетний показатель (СМП) в Российской Федерации в 2015-2024 гг. составил 0,97 на 100 тыс. населения. В период пандемии COVID-19 уровень заболеваемости опускался ниже СМП, после чего возобновил тенденцию к росту. Вероятной причиной спада заболеваемости

было введение в Российской Федерации системных карантинных ограничений для борьбы с пандемией, а также существенное снижение миграционных потоков из-за рубежа. В 2023 г. заболеваемость эпидемическим паротитом вернулась к допандемийному уровню. В 2024 г. показатель заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации составил 1,92 на 100 тыс. населения, что в 1,97 раза превышает СМП (p <0,001) [11] (рисунок 3.1).

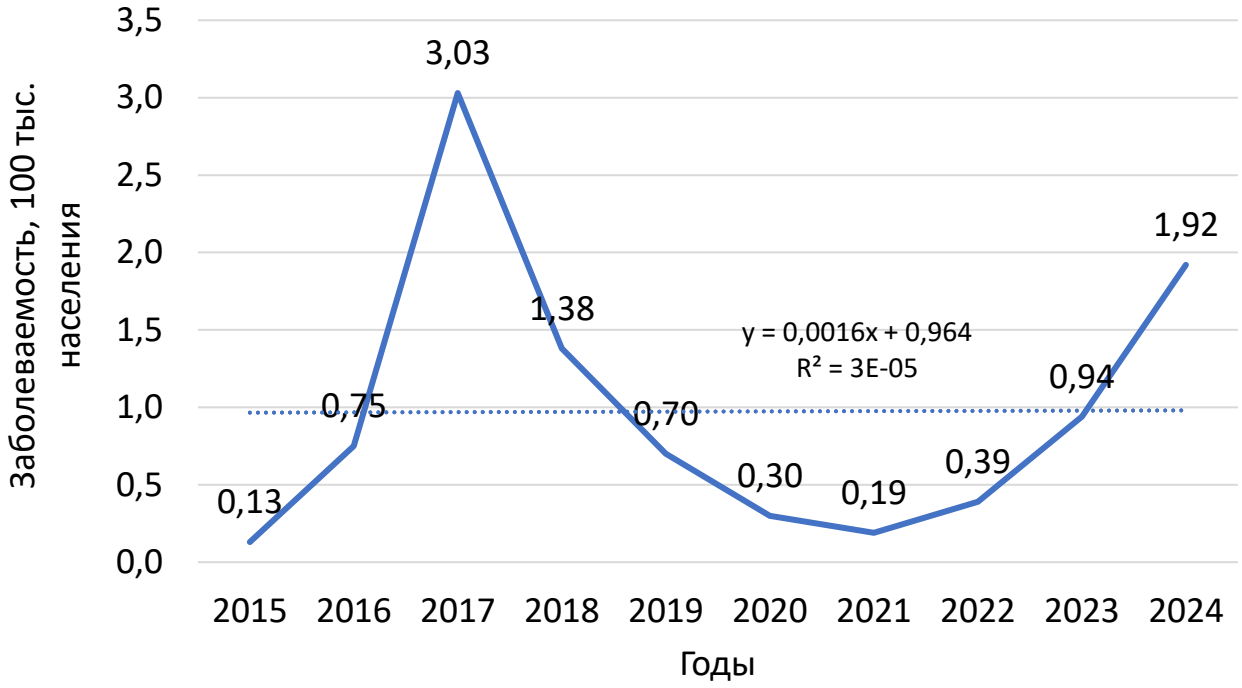


Рисунок 3.1 – Динамика заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации в 2015–2024 гг.

В многолетней динамике заболеваемости в период с 2015 по 2024 гг. в Российской Федерации зарегистрировано два подъема заболеваемости эпидемическим паротитом: в 2017 г. (3,03 на 100 тыс. населения) и 2024 г. (1,92 на 100 тыс. населения). В 2015 г. в стране установлен исторический минимум – зарегистрировано только 193 случая эпидемического паротита. Однако, в целом уровень заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации в период с 2015 по 2024 гг. оставался стабильным (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Заболеваемость эпидемическим паротитом в Российской Федерации в 2015–2024 гг.

Годы	Заболеваемость эпидемическим паротитом, на 100 тыс. населения	Абсолютный прирост/убыль, на 100 тыс. населения	Показатель роста/снижения, %	Темп прироста/убыли, %
2015	0,13	-	-	-
2016	0,76	0,62	584,62	484,62
2017	3,03	2,28	398,68	298,68
2018	1,38	-1,65	45,54	-54,46
2019	0,70	-0,68	50,72	-49,28
2020	0,30	-0,40	42,86	-57,14
2021	0,19	-0,11	63,33	-36,67
2022	0,39	0,20	205,26	105,26
2023	0,94	0,55	241,03	141,03
2024	1,92	0,98	204,26	104,26
среднее	0,97	0,20	204,03	104,03

Анализ помесячной динамики заболеваемости эпидемическим паротитом позволил установить наличие сезонных эпидемическим подъемов. Максимальные показатели заболеваемости наблюдались в период с февраля по май, тогда как наименьшее количество случаев отмечалось в сентябре (рисунок 3.2). Данная закономерность в распределении случаев заболевания в течение года, характеризующаяся зимне-весенней сезонностью, обусловлена особенностями формирования детских групп в образовательных учреждениях и накоплением доли неиммунных лиц.

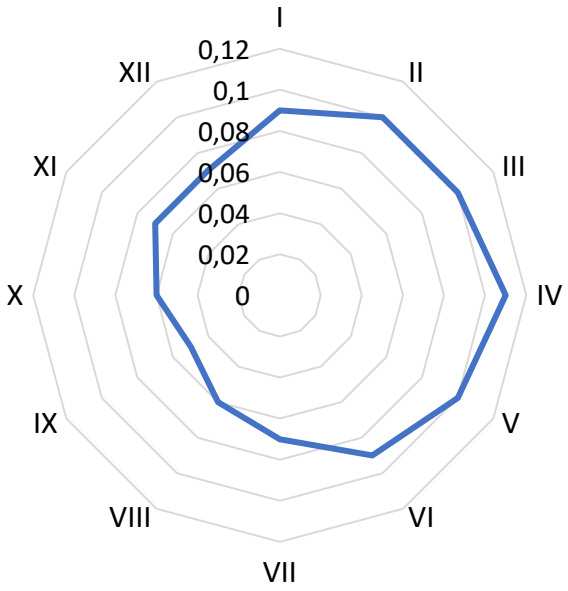
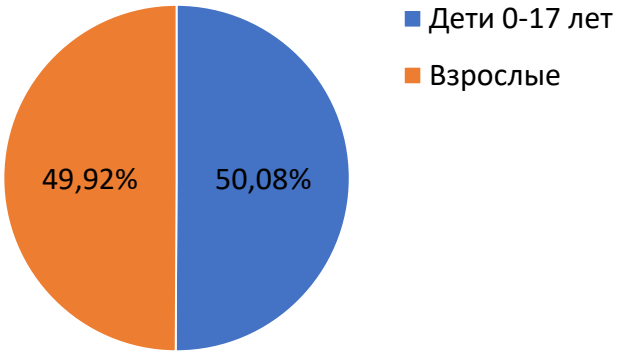


Рисунок 3.2 – Внутригодовая динамика заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации (среднемесячные показатели на 100 000 населения)

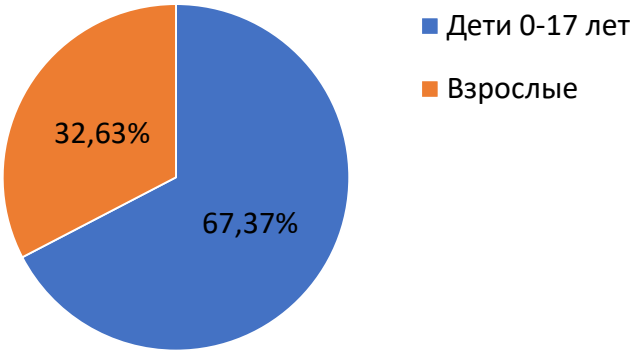
В результате успешного проведения мероприятий по плановой вакцинопрофилактике эпидемического паротита среди детей изменилась возрастная структура заболевших. Так, в 2015-2019 гг. и 2023-2024 гг. удельный вес взрослых составлял около половины от всех заболевших, что может свидетельствовать о накоплении восприимчивого контингента среди взрослых (рисунок 3.3).

Вместе с тем, в период пандемии COVID-19 (2020-2022 гг.), когда отмечалось снижение заболеваемости эпидемическим паротитом, в структуре заболевших наблюдалось увеличение детского контингента, причем, в отличие от предыдущих лет, основной вклад в заболеваемость вносили дети в возрасте 3-6 (27,5%) и 7-14 лет (20,7%), а вклад подростков 15-18 лет в заболеваемость был не таким существенным – 8,6% от общего количества заболевших (рисунок 3.4).

А



Б



В

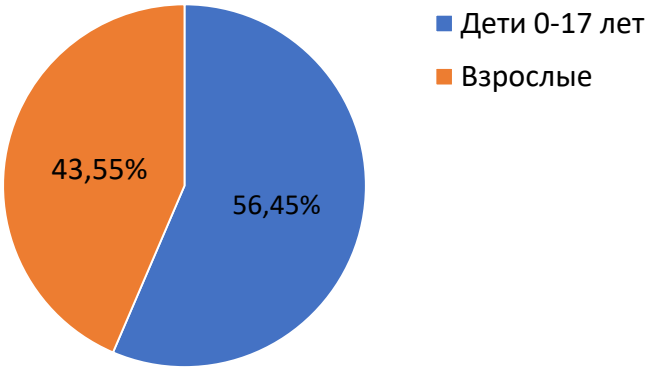


Рисунок 3.3 – Соотношение взрослого и детского населения в общей структуре заболеваемости эпидемическим паротитом на территории Российской Федерации в 2015–2019 гг. (А), 2020–2022 гг. (Б) и 2023-2024 гг. (В)

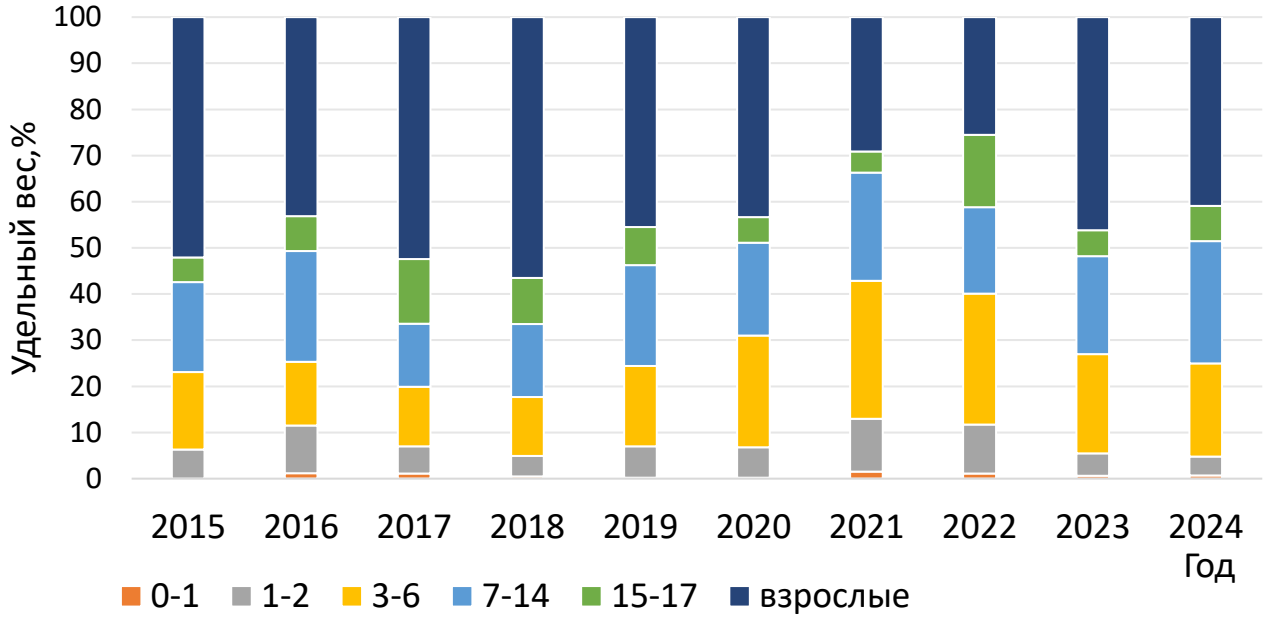


Рисунок 3.4 – Трансформация возрастной структуры заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации в 2015–2024 гг.

В период с 2015 по 2024 гг. в Российской Федерации было зарегистрировано 14 266 случаев заболевания эпидемическим паротитом, в том числе на жителей сельских поселений приходилось 3805 случаев. Из рисунка 3.5 следует, что на протяжении десятилетнего периода наблюдения среди заболевших эпидемическим паротитом основную часть составляли жители городов (73,33%), тогда как доля жителей сельских поселений составила 26,67%.

При этом динамика заболеваемости городского и сельского взрослого населения на протяжении изучаемого периода достоверно не отличалась (рисунок 3.6).



Рисунок 3.5 – Соотношение городского и сельского контингентов в структуре заболевших эпидемическим паротитом в Российской Федерации в 2015–2024 гг.

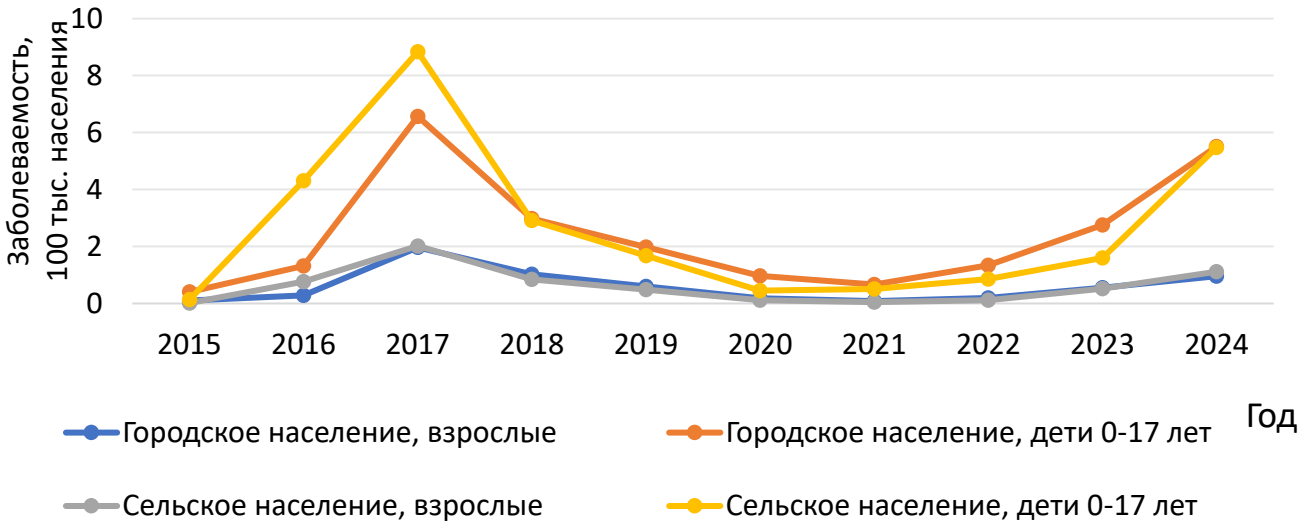


Рисунок 3.6 – Динамика заболеваемости эпидемическим паротитом городского и сельского населения в Российской Федерации в 2015–2024 гг.

В период с 2015 по 2024 гг. в Российской Федерации зарегистрирован один случай смерти от эпидемического паротита (0,07 на 100 тыс. населения, Чеченская Республика Северо-Кавказского федерального округа, 2017 г.).

Пространственная гетерогенность субъектов Российской Федерации по среднемноголетнему уровню заболеваемости эпидемическим паротитом в 2015-2024 гг. представлено на рисунке 3.7. Ретроспективный анализ показал, что только

в 16 регионах за весь период наблюдения не было выявлено ни одного случая заболевания данной инфекцией.

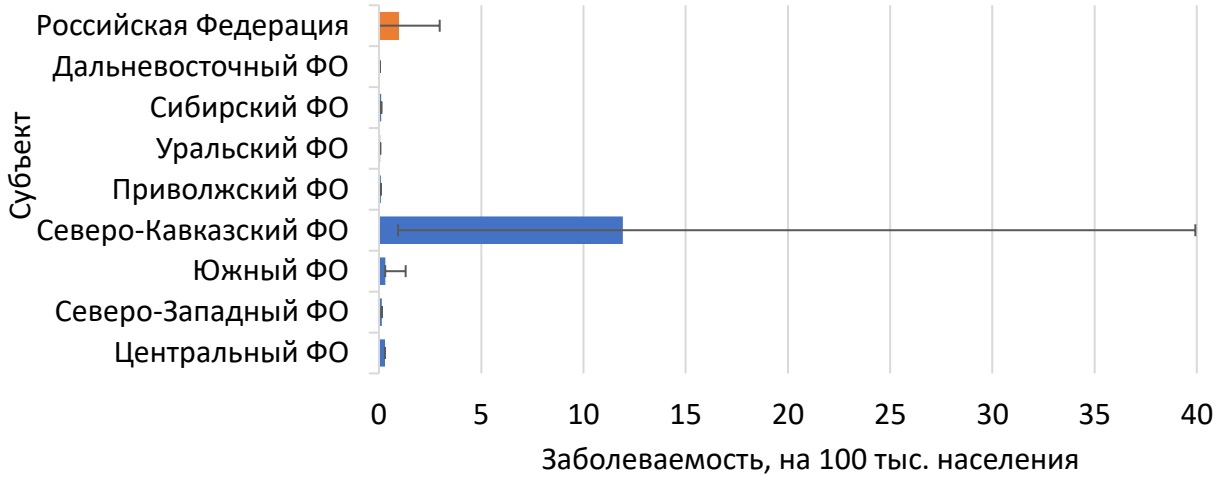


Рисунок 3.7 – Пространственная гетерогенность субъектов Российской Федерации по среднемноголетнему уровню заболеваемости эпидемическим паротитом в период 2015–2024 гг. (в расчете на 100 тысяч жителей)

Поскольку усредненные за десятилетие показатели сглаживают межгодовые колебания, дополнительно было проанализировано территориальное распределение заболеваемости в годы двух зарегистрированных эпидемических подъемов. Установлено, что во время первого пика (2017 г.) эпидемический процесс был преимущественно сконцентрирован в субъектах Северо-Кавказского и Южного федеральных округов (Республики Дагестан, Адыгея, Северная Осетия – Алания, Чеченская Республика, Ставропольский край и Астраханская область). В период второго подъема (2024 г.) география высокого уровня заболеваемости расширилась: помимо южных регионов (Республики Дагестан, Ингушетия, Северная Осетия – Алания и Астраханская область), интенсивное вовлечение в эпидемический процесс отмечалось в субъектах Центрального федерального

округа (Орловская и Тамбовская области). При этом стабильно высокие показатели на протяжении всего периода наблюдения сохранялись в Республике Дагестан.

В целом распределение заболеваемости эпидемическим паротитом по федеральным округам в период с 2015 по 2024 гг. продемонстрировало, что по степени эпидемического неблагополучия первое место принадлежало Северо-Кавказскому федеральному округу (11,93 на 100 тыс. населения) с превышением среднероссийского показателя (0,97 на 100 тыс. населения) в 12,25 раза (рисунок 3.8). Несмотря на выраженную межгодовую вариабельность показателей, обусловленную эпидемическими подъемами, при оценке суммарной заболеваемости за десятилетний период различия между СКФО и среднероссийским уровнем были статистически значимыми (p <0,0001).



П р и м е ч а н и е – ФО – федеральный округ

Рисунок 3.8 – Сравнительная характеристика заболеваемости эпидемическим паротитом в разрезе федеральных округов Российской Федерации (2015–2024 гг.)

В Северо-Кавказском федеральном округе лидирующие позиции по уровню заболеваемости эпидемическим паротитом принадлежали Республике Дагестан и Чеченской республике, в которых среднемноголетний показатель заболеваемости был равен 29,97 и 14,23 на 100 тыс. населения (рисунок 3.9). При оценке кумулятивных данных за десятилетний период кратность превышения

среднероссийского уровня в этих регионах составила 30,90 и 14,67 раза соответственно, при этом различия носили статистически значимый характер (p <0,0001).

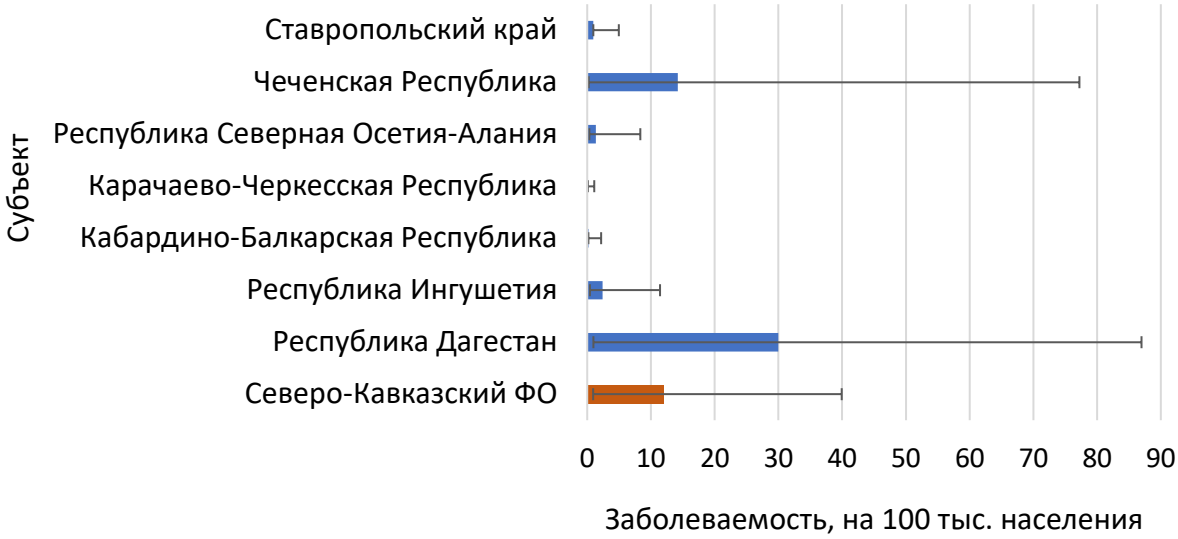


Рисунок 3.9 – Распределение заболеваемости эпидемическим паротитом по субъектам Северо-Кавказского федерального округа в 2015-2024 гг.

Поскольку основной вклад в заболеваемость эпидемическим паротитом за изучаемый период внесла Республика Дагестан, динамика уровня и структуры заболеваемости в данном субъекте требует отдельного рассмотрения.

3.2. Динамика уровня и структуры заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан

Уровень заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан менялся с резкой амплитудой. Значения колебались от 0,03 на 100 тыс. населения в 2015 году до 86,90 на 100 тыс. в 2017 году (p <0,0001). Благоприятные условия для активного распространения возбудителя сформировались вследствие роста доли не иммунной прослойки населения в данный период.

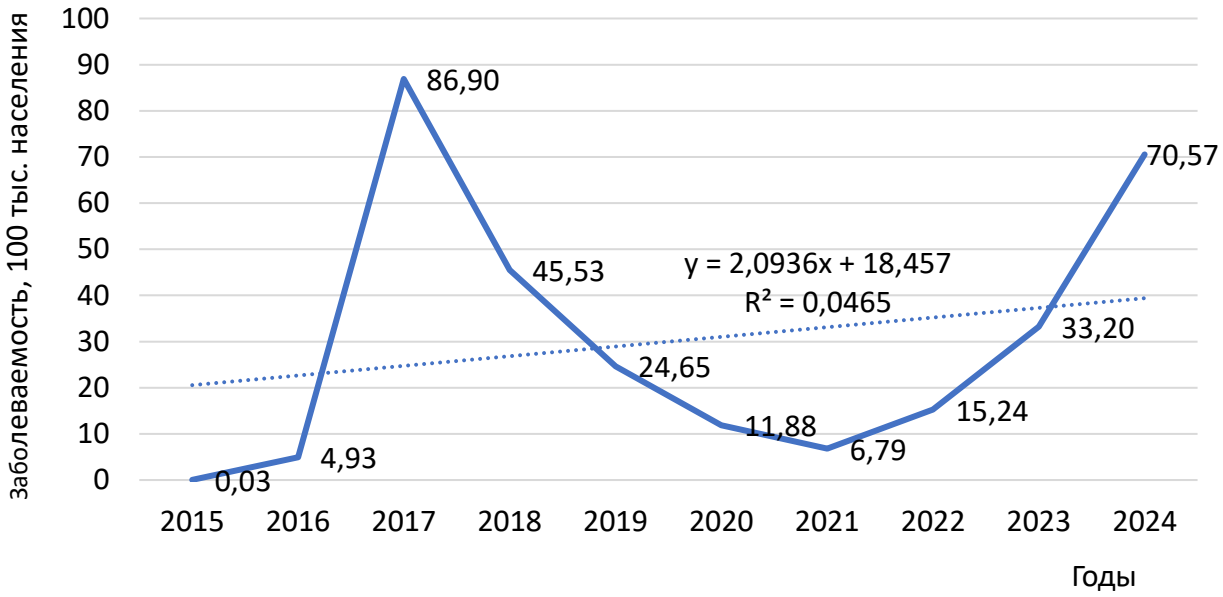


Рисунок 3.10 – Динамика заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан в 2015–2024 гг.

Анализ многолетней динамики показателей заболеваемости всего населения региона свидетельствует о ее выраженной неравномерности. За изучаемый период в динамике отмечены периоды спада и подъемов. Первый эпидемический подъем произошел в 2017 году. С 2015 по 2017 гг. частота выявления эпидемического паротита увеличилась в 2896,67 раза. Чистый прирост заболеваемости за этот период в Республике Дагестан в абсолютных значениях составил 86,87.

После пика 2017 года заболеваемость постепенно снижалась и в 2021 году достигла минимального уровня 6,79 на 100 тыс. населения.

В 2022 году эпидемический процесс вновь активизировался и за два года интенсивный показатель заболеваемости вырос в 10,39 раза, составив в 2024 году 70,57 на 100 тыс. населения.

Выявленные изменения в многолетней динамике статистически значимы (p <0,0001). Подробные расчеты по годам представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Заболеваемость эпидемическим паротитом в Республике Дагестан в 2015–2024 гг.

Годы	Заболеваемость эпидемическим паротитом, на 100 тыс. населения	Абсолютный прирост/убыль, на 100 тыс. населения	Показатель роста/снижения, %	Темп прироста/убыли, %
2015	0,03	-	-	-
2016	4,93	4,90	16433,33	16333,33
2017	86,90	81,97	1762,68	1662,68
2018	45,53	-41,37	52,39	-47,61
2019	24,65	-20,88	54,14	-45,86
2020	11,88	-12,77	48,19	-51,81
2021	6,79	-5,09	57,15	-42,85
2022	15,24	8,45	224,45	124,45
2023	33,20	17,96	217,85	117,85
2024	70,57	37,37	212,56	112,56
среднее	29,97	7,84	2118,08	2018,08

За анализируемый промежуток времени среднемноголетний уровень заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан среди взрослых составил 14,33 на 100 тыс. населения. Среди детей до 17 лет включительно данный показатель был равен 50,65 на 100 тыс. населения. Если рассматривать детей в разрезе возрастных категорий, то во время первой эпидемической волны 2017 года основной вклад в общую заболеваемость обеспечивался подростками в возрасте 15-17 лет. В этой когорте интенсивный показатель достигал уровня 303,65 случая на 100 тыс. детей данного возраста. В период второго подъема заболеваемости 2024 года наблюдалась иная ситуация, распределение заболевших сместилось в сторону младших возрастов. Так, количество детей 3-6 лет в структуре общей заболеваемости значимо увеличилось, уровень в данной когорте составил 237,26 на 100 тыс. детей соответствующего возраста (p <0,001).

В других возрастных категориях отмечались аналогичные тренды. Период пандемии COVID-19 характеризовался спадом интенсивности эпидпроцесса, после чего заболеваемость вновь вернулась к исходному уровню (рисунок 3.11).

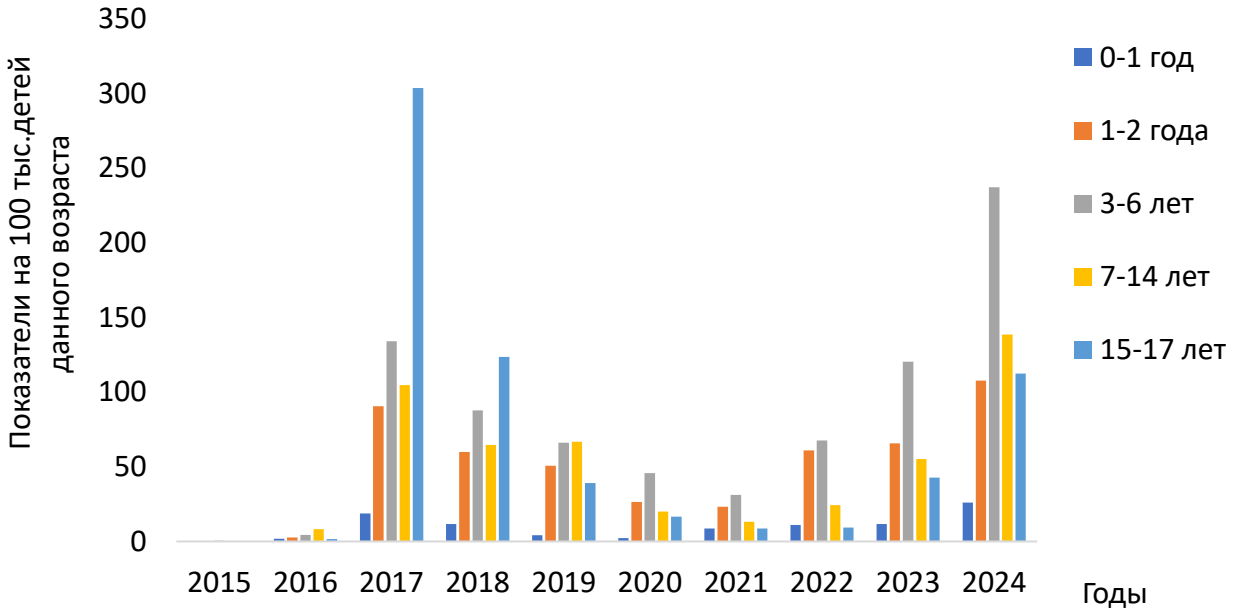


Рисунок 3.11 – Заболеваемость эпидемическим паротитом детского населения Республики Дагестан в 2015-2024 гг. (показатели на 100 тыс. детей данного возраста)

Недостаточный охват населения вакцинацией и ревакцинацией против эпидемического паротита и недостаточная эффективность применяемых методов диагностики обусловливает неравномерность показателей заболеваемости в разных регионах Российской Федерации. Все это говорит о необходимости улучшения этиологической расшифровки случаев эпидемического паротита с использованием современных молекулярно-биологических методов.

3.3. Очаговость в эпидемическом процессе эпидемического паротита

Важным параметром для анализа эпидемической обстановки является оценка очаговости. Оперативность проведения противоэпидемических мероприятий оказывает существенное влияние на интенсивность формирования эпидемических очагов.

Своевременное выявление и изоляция инфицированных пациентов на ранних этапах манифестации симптомов, наряду с экстренной вакцинопрофилактикой

контактного контингента, позволяют эффективно блокировать дальнейшую передачу патогена. Это, в свою очередь, приводит к локализации инфекции и снижению общей активности эпидпроцесса.

С целью изучения интенсивности эпидемического процесса эпидемического паротита в пределах Российской Федерации за десятилетний отрезок времени (2015-2024 гг.) на основе официальной статистики был выполнен ретроспективный анализ структуры и географического распределения очаговости. Отчетные материалы формы №23 Отраслевого статистического наблюдения «Сведения о вспышках инфекционных и паразитарных заболеваний» показывают, что за исследуемое десятилетие в Российской Федерации было зафиксировано 34 эпидемических очага данной патологии с групповым характером заражения. Пик манифестации вспышечной заболеваемости пришелся на 2017 год, тогда как в 2020, 2022 и 2023 годах подобные групповые случаи в стране не выявлялись. За весь период наблюдения в эпидемических очагах пострадало 324 человека, в структуре которых доля лиц в возрасте до 17 лет составила 61,42% (199 детей). За анализируемый период произошли две вспышки эпидемического паротита в дошкольных образовательных учреждениях Астраханской области (2017 г.) и Республики Дагестан (2018 г.), 14 вспышек в общеобразовательных учреждениях Адыгеи (2016 г.), Ставропольского края (2016 и 2017 гг.), Республики Дагестан (2018, 2019, 2021 и 2024 гг.) и Астраханской области (2024 г.), а также 10 групповых инцидентов в организациях начального и среднего профессионального образования и ВУЗах Астраханской области (2015 и 2017 гг.), Адыгеи (2017 г.), Республики Дагестан (2017 г.), Ставропольского края (2017 г.), Саратовской (2017 г.) и Ростовской (2017 и 2018 гг.) областей.

Регистрация очагов с одним случаем заболевания, не приводящих к дальнейшему распространению инфекции среди контактировавших, служит индикатором результативности противоэпидемических мероприятий в очаге. В свою очередь, фиксация групповых заболеваний и вспышек указывает на эпидемиологическое неблагополучие данной территории. Таким образом,

мониторинг очаговости и анализ факторов, влияющих на нее, необходимы для контроля и предотвращения распространения инфекционных болезней.

Анализ качественных характеристик эпидемического процесса эпидемического паротита в Российской Федерации в период 2015–2024 гг. свидетельствует о выраженном превалировании очагов с одним случаем заболевания, доля которых исчислялась 99,76% (ДИ: 99,65–99,88%). При этом сопутствующие эпидемиологические критерии составили 1,02 для индекса очаговости и 0,24% для коэффициента очаговости, уровень очаговости составил 0,0023 на 100 тыс. населения, что подтверждает преимущественно спорадический характер распространения патогена в целом по стране. Вместе с тем, за анализируемый период времени 44,12% очагов с распространением эпидемического паротита пришлось на Республику Дагестан. Индекс очаговости в регионе составил 1,02, коэффициент очаговости – 0,29%. Уровень очаговости по региону составил 0,05 на 100 тыс. населения, что в 21 раз выше среднероссийского уровня.

3.4. Уровень охвата своевременной иммунизацией против эпидемического паротита в Российской Федерации

В период с 2015 по 2024 гг. рекомендованный целевой показатель иммунизации (95% и более) среди двухлетних детей (в возрасте 24 месяцев) в отношении эпидемического паротита стабильно обеспечивался во всех субъектах Российской Федерации, за исключением Ненецкого автономного округа (90,7%, 92,99%, 94,29%, 94,49%, 90,59% в 2016, 2017, 2021, 2022 и 2023 годах соответственно), Чеченской Республики (94,4% и 94,89% в 2016 и 2020 годах соответственно), Карачаево-Черкесской Республики (93,15% в 2020 году), Республики Карелия (94,61% и 93,15% в 2020 и 2023 годах соответственно), Республики Ингушетия (94,65% в 20222 году), Республики Адыгея (94,92% в 2023

году), Брянской и Архангельской областей (94,51% и 94,94% соответственно в 2023 году).

Охват ревакцинацией детей в возрасте 6 лет в период с 2015 по 2022 гг. достигал требуемого уровня в целом по стране, однако на отдельных территориях вторую дозу вакцины получили только 80-95% детей, причем количество таких регионов увеличивалось от года к году. При детальном анализе регионов с недостаточным охватом вакцинацией в разрезе плотности населения, можно выделить ряд территорий (включая Ненецкий, Чукотский и Ханты-Мансийский автономные округа, Красноярский край, республики Карелия и Калмыкия, а также Сахалинскую область), для которых характерна низкая плотность населения (0,1-5,3 чел./км^2) и спорадический уровень распространения эпидемического паротита (0-0,11 на 100 тыс. населения), а также регионы (Республика Дагестан и Чеченская Республика) с более высокой плотностью населения (64,8-100,8 чел./км^2) и более высоким уровнем заболеваемости (14,23-29,97 на 100 тыс. населения).

В 2023 и 2024 гг. охват ревакцинацией детей в возрасте 6 лет в целом по стране составил 71,27% и 92,33% соответственно. При этом в 2023 году рекомендуемый уровень охвата не был достигнут на 75, а в 2024 году – на 59 территориях. В 5 регионах (Республика Карелия, Курская, Оренбургская, Орловская и Челябинская области) уровень охвата ревакцинацией в 2023-2024 гг. был ниже 70%, что с учетом плотности населения Курской и Челябинской областей могло послужить одной из причин вспышек заболеваемости эпидемическим паротитом в данных регионах в 2025 году.

Эпидемический процесс эпидемического паротита традиционно поддерживается за счет непривитых лиц, на долю которых в 2021-2024 гг. приходилось в среднем 78% заболевших. Несмотря на высокие уровни охвата вакцинацией в целом по стране, проявление эпидемического процесса эпидемического паротита свидетельствует о сохранении восприимчивых групп населения. Вероятно, это обусловлено неточностями в представляемой информации об уровне иммунизации против данного заболевания. Совокупность факторов, включая высокую вероятность импортирования инфекции и присутствие

в популяции восприимчивых к ней лиц, особенно из групп риска, приводит к сохранению опасности распространения эпидемического паротита на территории Российской Федерации.

***

Таким образом, анализ полученных в Главе 3 результатов позволяет утверждать, что внедрение массовой вакцинопрофилактики обеспечило многократное снижение распространения эпидемического паротита в Российской Федерации. Вместе с тем, результаты ретроспективного анализа заболеваемости за 10-летний период (2015-2024 гг.) свидетельствуют о волнообразном характере эпидемического процесса с тенденцией к росту после 2016 года. Значение среднемноголетнего показателя заболеваемости в Российской Федерации составило 0,97 на 100 тыс. населения, при этом было зафиксировано два выраженных эпидемических пика в 2017 и 2024 годах. Временный спад заболеваемости в 2020-2022 годах был обусловлен карантинными мероприятиями, связанными с пандемией COVID-19, после чего показатели заболеваемости вернулись к допандемийному уровню.

Анализ внутригодовой динамики выявил зимне-весеннюю сезонность с максимальным уровнем заболеваемости в период с февраля по май и минимальным уровнем в сентябре, что может быть обусловлено цикличностью формирования детских коллективов в дошкольных и школьных образовательных учреждениях и постепенным накоплением доли восприимчивых лиц. Высокие охваты плановой иммунизацией детей привели к смещению возрастной структуры заболевших в сторону взрослого населения. За анализируемый период в стране зарегистрирован один случай летального исхода в Чеченской Республике в 2017 году.

Распределение случаев заболевания эпидемическим паротитом по регионам Российской Федерации было крайне неравномерным. В Северо-Кавказском федеральном округе показатель заболеваемости превышал среднероссийский в 12,25 раза (p <0,001). Внутри округа наиболее неблагополучная обстановка была в Чеченской Республике и Республике Дагестан. Динамика заболеваемости в этих

регионах характеризовалась резкой амплитудой колебаний с пиками в 2017 и 2024 годах. При этом, в Республике Дагестан во время первого подъема заболеваемости в возрастной структуре доминировали подростки 15-17 лет (46,59%), в то время как второй подъем был обусловлен большим количеством заболевших детей младшей возрастной группы (3-6 лет), доля которой составила 35,05% от общего числа заболевших детей. Это свидетельствует о падении доли иммунной прослойки среди дошкольников.

Оценка очаговости подтвердила высокую эффективность проводимых оперативных противоэпидемических мероприятий, поскольку подавляющее количество очагов в стране ограничивалось одним случаем. В то же время на Республику Дагестан пришлось 44,12% всех групповых очагов страны, а уровень региональной очаговости в 21 раз превысил общероссийский. Одной из ключевых причин неравномерного распределения заболеваемости является недостаточный охват своевременной вакцинацией и ревакцинацией в отдельных регионах. Так, в 2023 и 2024 годах охват ревакцинацией детей декретированного возраста в целом по стране снизился до 71,27% и 92,33% соответственно, а в Курской, Челябинской, Оренбургской, Орловской областях и Республике Карелия он опустился ниже 70%, что обусловило вспышки эпидемического паротита в данных регионах в 2025 году. Эпидемический процесс поддерживался преимущественно за счет непривитых лиц, на долю которых в 2021-2024 годах приходилось в среднем 78% заболевших.

ГЛАВА 4. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В рамках реализации национальной программы «Элиминации кори и краснухи, достижение спорадической заболеваемости эпидемическим паротитом (2021–2025 гг.)» [8] поставлены задачи, предполагающие не только фиксацию случаев заболевания, но и молекулярно-генетический мониторинг. Генотипирование является единственным способом, позволяющим отличить «дикий» вирус от вакцинных штаммов и подтвердить прерывание цепочек передачи инфекции. Кроме того, генетический анализ позволяет отслеживать импорт штаммов из сопредельных государств и стран дальнего зарубежья и выявлять локальные вспышки, вызванные уникальными российскими вариантами. Актуальность молекулярно-генетического мониторинга возбудителя эпидемического паротита в Российской Федерации продиктована необходимостью контроля за циркуляцией вируса на фоне высокого уровня охвата прививками. Изучение генетической вариабельности изолятов позволяет своевременно выявлять изменения антигенных свойств и оценивать риск возникновения вспышек среди вакцинированного населения. Антигенный дрейф вируса эпидемического паротита является медленным эволюционным процессом, однако, оценка генетической дистанции между вакцинным и циркулирующими штаммами критична для понимания причин снижения эффективности вакцин.

С целью изучения генетического разнообразия вируса эпидемического паротита, циркулирующего на территории Российской Федерации (в частности, в Республике Дагестан, поскольку порядка 80% случаев эпидемического паротита в стране за изучаемый период было зарегистрировано в этом регионе), в 2024-2026

---

[8] Об утверждении программы «Элиминация кори, краснухи и достижение спорадической заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации (2021-2025 гг.)»: Приказ Роспотребнадзора № 409, Минздрава России № 751 от 23.07.2021. – URL: rospotrebnadzor.ru (дата обращения: 13.08.2026).

гг. было проведено исследование 122 образцов мазков со слизистой оболочки ротоглотки, взятых от пациентов, госпитализированных с диагнозом «эпидемический паротит» в ГБУ РД «РЦИБ и СПИД им. С.М. Магомедова» (г. Махачкала). Образцы были протестированы методом ПЦР, амплифицирующей участок *SH* гена с использованием праймеров SH1 и SH2. Качество образцов и уровень вирусной нагрузки позволили получить 41 сиквенс и провести генотипирование. Определена принадлежность 34 штаммов к генотипу G, тогда как доля генотипа C исчислялась 7 изолятами. Наряду с этим, не было зафиксировано ни одного случая выявления вариантов вируса, соответствующих вакцинным генотипам N или A.

Массив генетических данных, полученный в ходе диссертационного исследования, лег в основу филогенетического анализа. Для обеспечения высокой репрезентативности сравнения оригинальные нуклеотидные последовательности были объединены с сиквенсами, депонированными в репозитории VGARus ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора и референсными штаммами других генотипов из GenBank. Наиболее подробно нами рассматривались генотипы G C и J, поскольку вирусы эпидемического паротита данных генотипов циркулируют на территории Российской Федерации или могут быть импортированы; а также генотипы вакцинных штаммов A и N. Таким образом, в ходе исследования был проведен анализ 123 изолятов вируса эпидемического паротита из 15 регионов Российской Федерации (таблица 4.1). Прочие генетические варианты вируса эпидемического паротита задействовались в рамках данного анализа в роли внешней группы.

На рисунке 4.1 представлено филогенетическое дерево локуса *SH* вируса эпидемического паротита, реконструкция которого выполнялась на основе алгоритма максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Матрица нуклеотидных замен рассчитывалась в рамках эволюционной модели General Time Reversible (G+I), а уровень консервативности ветвей (индекс Bootstrap) устанавливали по результатам 1000 итераций.

Таблица 4.1 – Территориальное распределение коллекции штаммов вируса эпидемического паротита, собранных в 2024-2026 гг.

Территория	Количество штаммов (год выделения)			
	Генотип G	Генотип C	Генотип J	Генотип N
Астраханская область	1 (2025)			
Белгородская область	1 (2025)			
Владимирская область	2 (2025)			
Воронежская область	1 (2025)			2 (2025)
г. Москва	2 (2025)			
г. Санкт-Петербург	2 (2025)			2 (2025)
г. Севастополь	1 (2025)			
Краснодарский край	1 (2025)			
Красноярский край	2 (2025)			
Курская область	16 (2025) 4 (2026)			
Республика Адыгея	1 (2025)			
Республика Дагестан	23 (2024) 30 (2025) 2 (2026)	1 (2024) 9 (2025) 1 (2026)	2 (2025)	
Рязанская область	8 (2025)			
Ханты-Мансийский автономный округ	3 (2025)			
Ямало-Ненецкий автономный округ	4 (2025) 1 (2026)			1 (2025)
ИТОГО:	105	11	2	5

Анализ топологии построенного филогенетического дерева говорит о преобладании генотипа G. На рисунке генетические линии данного генотипа представлены красным и зеленым секторами. Для образцов генотипа G показана выраженная кластеризация, поскольку штаммы из 15 различных регионов Российской Федерации формируют единый монофилетический кластер, обозначенный на рисунке красным цветом, с бутстрэп поддержкой 99-100%. Такая генетическая гомогенность образцов, собранных на обширной территории, может

указывать на синхронизацию эпидемического процесса в масштабах страны путем быстрого распространения одного наиболее успешного варианта вируса.

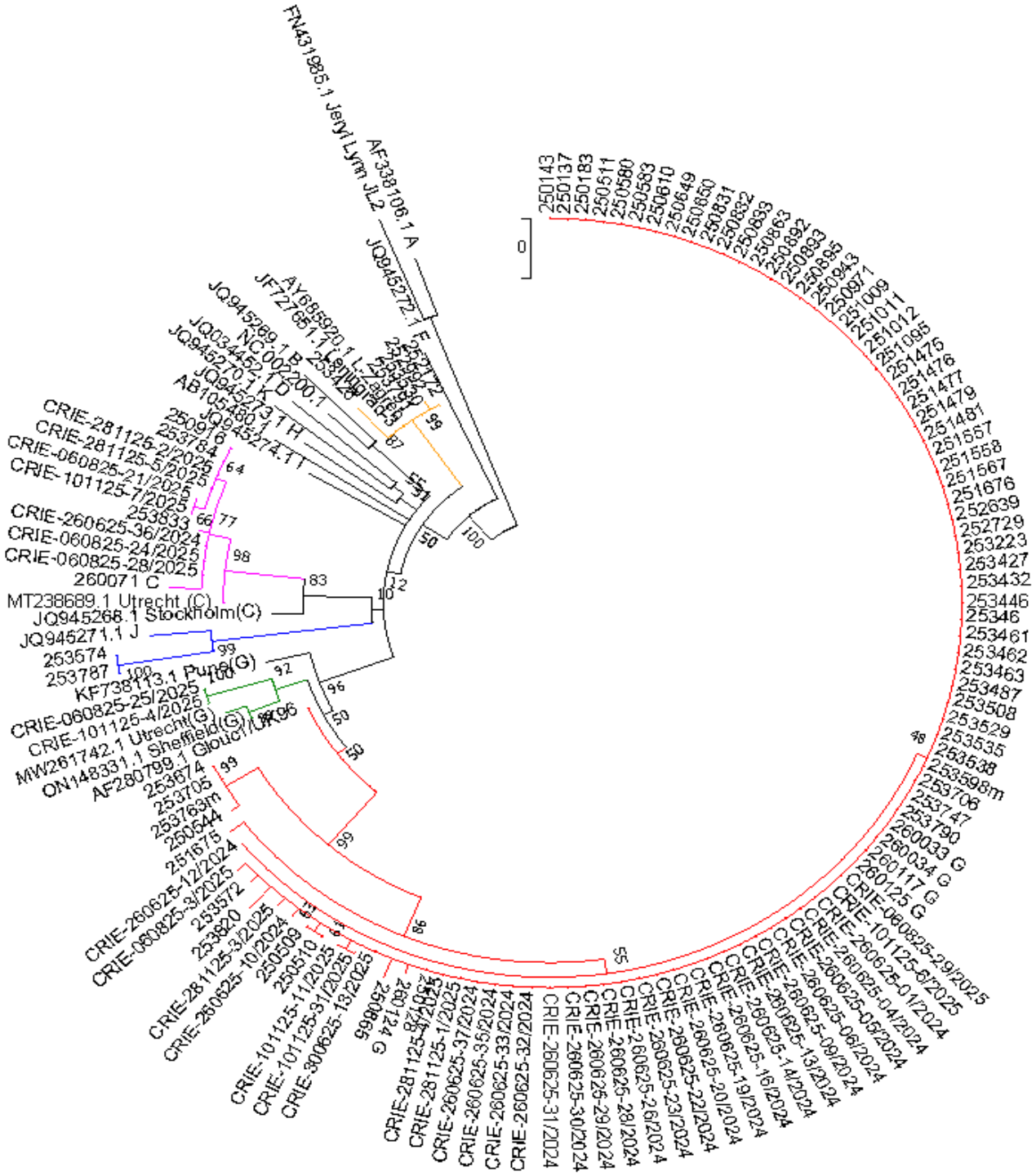


Рисунок 4.1 – Филогенетическое дерево

Параллельно зафиксирована одновременная циркуляция генотипов J и C, на рисунке данные секторы обозначены синим и розовым цветом соответственно. На филогенетическом дереве эти группы обособлены и показывают существенную генетическую дистанцию (идентичность 86-89%) от основной массы изученных изолятов. Образцы генотипа J, собранные на территории Республики Дагестан, оказались близки к штаммам из Швеции. В то время как образцы, принадлежащие генотипу C, судя по нуклеотидным последовательностям, оказались идентичными с штаммами из Индии. Эти спорадические заносы возбудителя эпидемического паротита не получили широкого распространения на территории Российской Федерации.

Вакцинный штамм *Leningrad-3* (генотип N) формирует отдельную ветвь, отмеченную на рисунке желтым цветом, которая удалена от циркулирующих диких штаммов на 17-18%. Такая значительная генетическая дистанция подтверждает необходимость использования молекулярно-биологических методов для разграничения случаев заболевания и поствакцинальных реакций.

Поскольку большинство исследуемых образцов принадлежало к генотипу G, их нуклеотидные последовательности были преобразованы в аминокислотные и проанализированы. Проведенный анализ выявил ряд замен в трансмембранном домене белка SH. Замена лейцина на валин в положении 13 (L13V), предположительно, служит для адаптации к липидному составу мембран. В то время как замена изолейцина на валин в положении 16 (I16V) может оказывать влияние на липид-белковые взаимодействия. Поскольку данные аминокислотные замены не влияют на гидрофобность, они, вероятно, не нарушают пространственную структуру белка. Однако они влияют на эффективность олигомеризации белка и стабильность формируемого ионного канала, тем самым внося вклад в вариабельность генотипа G. Несмотря на сохранение структурных свойств белка, обнаруженные аминокислотные замены служат маркерами микроэволюции вируса эпидемического паротита.

Нуклеотидные последовательности вируса, которые впервые были обнаружены на территории Российской Федерации, мы депонировали в международную базу данных GenBank под номерами PQ001009.1 и PQ001008.1.

Кроме того, для отечественных специалистов на платформе VGARus был создан специализированный раздел для загрузки и последующего анализа нуклеотидных последовательностей вируса эпидемического паротита. Подобное расширение функционала базы данных геномов позволяет осуществлять молекулярно-генетический мониторинг возбудителя в режиме реального времени.

Полученные данные говорят о необходимости внедрения молекулярно-генетического мониторинга в рутинную практику эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита. Однако для этого требуется расширение методической и аналитической базы.

Необходимо в первую очередь разработать методики для выявления вирусной РНК в клинических образцах. Создание высокочувствительных методик на основе молекулярно-биологических методов позволит улучшить этиологическую расшифровку случаев заболевания. Следующим этапом должен стать переход от рутинного секвенирования гена *SH* к мультилокусному анализу. Секвенирование некодирующих областей генома возбудителя, которые эволюционируют быстрее, чем структурные гены, позволит устанавливать источники заноса и пути распространения вируса посредством более высокого разрешения филогенетического анализа.

Кроме того, расширение области секвенирования генома возбудителя путем добавления гена *HN* позволит оценить антигенный дрейф в основных нейтрализующих эпитопах, что, в свою очередь, может своевременно повлиять на ускользающие от иммунитета варианты.

***

Таким образом, эпидемический процесс эпидемического паротита на территории Российской Федерации в период с 2024 по 2026 гг. характеризовался доминированием генотипа G, на долю которого пришлось более 85% всех

генотипированных образцов. Образцы, собранные на 15 различных территориях, обладали высокой генетической схожестью и формировали единый кластер. Это свидетельствует о широком распространении в Российской Федерации одного генетического варианта вируса. Обнаружение генотипов C и J следует рассматривать в качестве спорадических заносов из других государств, поскольку эти варианты не получили широкого распространения в популяции.

Детальный анализ аминокислотных последовательностей белка SH у доминирующего генотипа позволил обнаружить специфические замены в его трансмембранном домене, способные влиять на стабильность формируемого ионного канала и являющиеся маркерами микроэволюции вируса.

Для качественного улучшения молекулярно-генетического мониторинга требуется расширение методической базы, включающее разработку высокочувствительных методик для детекции вирусной РНК из клинических образцов, а также переход от секвенирования локуса *SH* к мультилокусному анализу. Расширение области секвенирования позволит оценить антигенный дрейф в ключевых нейтрализующих эпитопах и своевременно повлиять на ускользающие от поствакцинального иммунитета варианты.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ И ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК ВИРУСА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ И ОЦЕНКА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Оптимизация контроля за популяционной структурой вируса *Orthorubulavirus parotitidis* диктует необходимость внедрения экспресс-технологий молекулярного анализа, способных быстро верифицировать РНК патогена в клинических образцах. В качестве признанной технологической основы в диагностических алгоритмах выступает метод ПЦР, характеризующийся доказанной надежностью и высокой аналитической чувствительностью. Вместе с тем современный этап развития лабораторной диагностики характеризуется ростом популярности изотермических методов амплификации нуклеиновых кислот, среди которых выделяется LAMP. С опорой на данные технологические платформы в рамках диссертационной работы были разработаны оригинальные методики, предназначенные для выявления генетического материала вируса эпидемического паротита на базе ПЦР и LAMP.

5.1. Разработка методики для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита на основе полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

Предложенный методический подход на основе ПЦР адаптирован под флуоресцентные детекторы (амплификаторы), оснащенные двумя и более оптическими каналами. Оптический канал FAM в данной системе отвечает за учет сигнала внутреннего контрольного образца, канал HEX - за учет сигнала кДНК эпидемического паротита. В качестве экзогенного неконкурентного рекомбинантного внутреннего контрольного образца (IC) выступает искусственно смоделированный нуклеотидный фрагмент РНК, клонированный в структуру

бактериофага MS2. Этот контрольный образец вносится на этапе экстракции в каждую пробирку, что позволяет контролировать процедуру анализа проб. В состав набора реагентов входит положительный контрольный образец (С+) с заданной концентрацией, который является РНК-содержащим бактериофагом MS2 с клонированным участком генома вируса эпидемического паротита и проходит все этапы анализа вместе с исследуемыми образцами. Критерием верификации положительного результата служит пересечение графика флуоресценции с пороговой линией, зафиксированной на определенном уровне. Для точной количественной оценки содержания мишени в положительном контроле использовался метод капельной цифровой ПЦР (ddPCR) с использованием системы QX100 производства «Bio-Rad Laboratories, Inc.» (США; РУ № ФСЗ 2012/13278 от 20.11.2012 г.), в строгом соответствии с методическими указаниями к оборудованию.

Дизайн олигонуклеотидов (специфичных праймеров и зонда), предназначенных для выявления РНК вируса эпидемического паротита, осуществлялся по результатам сравнительного выравнивания нуклеотидных последовательностей гена размером 1650 нуклеотидов, кодирующего структурный нуклеокапсидный белок (NP). Размер амплифицируемого фрагмента составил 166 п.н. (температура плавления – 71,6 °С, GC-состав 50,6%) [10].

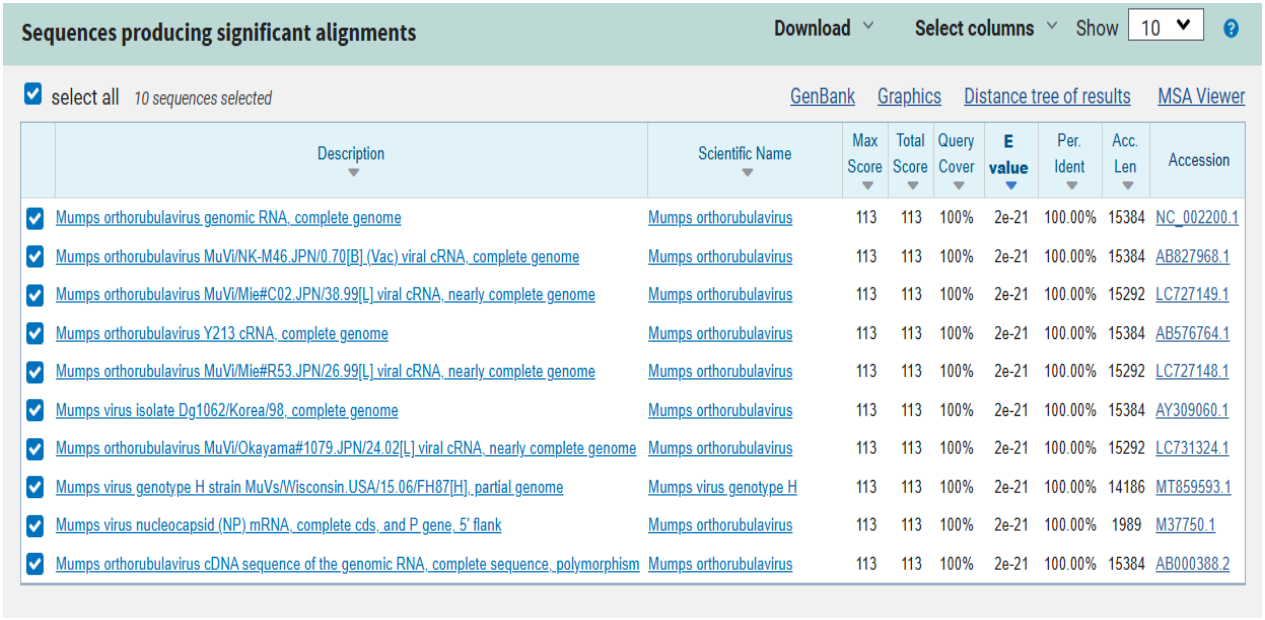
Белок NP является основным структурным компонентом нуклеокапсида. Масса белка составляет около 58 кДа. Для плотной инкапсуляции РНК требуется 2600 молекул белка.

Анализ молекулярной структуры подобранных олигонуклеотидных праймеров и зонда с флуоресцентной меткой «TaqMan» не выявил совпадений с геномами гетерологичных организмов (рисунок 5.1).

Интерпретация результата при тестировании биологического материала основана на качественном расчете.

Для подтверждения валидности аналитических результатов использовали систему тройного контроля, включающую положительный и отрицательный контрольные образцы этапа экстракции, а также отрицательный контроль

амплификации. Роль отрицательных контрольных образцов сводилась к исключению ложноположительных результатов, вызванных как контаминацией между исследуемыми образцами, так и контаминацией остаточными ампликонами из предыдущих ПЦР-исследований.



Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 10

select all *10 sequences selected* GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Mumps orthorubulavirus genomic RNA, complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15384	NC_002200.1
Mumps orthorubulavirus MuVi/NK-M46.JPN/0.70[B] (Vac) viral cRNA, complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15384	AB827968.1
Mumps orthorubulavirus MuVi/Mie#C02.JPN/38.99[L] viral cRNA, nearly complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15292	LC727149.1
Mumps orthorubulavirus Y213 cRNA, complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15384	AB576764.1
Mumps orthorubulavirus MuVi/Mie#R53.JPN/26.99[L] viral cRNA, nearly complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15292	LC727148.1
Mumps virus isolate Dg1062/Korea/98, complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15384	AY309060.1
Mumps orthorubulavirus MuVi/Okayama#1079.JPN/24.02[L] viral cRNA, nearly complete genome	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15292	LC731324.1
Mumps virus genotype H strain MuVs/Wisconsin.USA/15.06/FH87[H], partial genome	Mumps virus genotype H	113	113	100%	2e-21	100.00%	14186	MT859593.1
Mumps virus nucleocapsid (NP) mRNA, complete cds, and P gene, 5' flank	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	1989	M37750.1
Mumps orthorubulavirus cDNA sequence of the genomic RNA, complete sequence, polymorphism	Mumps orthorubulavirus	113	113	100%	2e-21	100.00%	15384	AB000388.2

Рисунок 5.1 – Результаты оценки специфичности выбранной нуклеотидной последовательности с помощью инструмента BLAST

На этапе выполнения опытно-конструкторских работ были оптимизированы параметры реакционной смеси, содержащей специфические олигонуклеотидные праймеры и зонды, дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ), буферный раствор с ионами магния (Mg^{2+}), ферменты (полимераза TaqF, обратная транскриптаза MMLV). Условия постановки ОТ-ПЦР-РВ моделировались в соответствии со стандартными диагностическими регламентами. Базовый температурно-временной протокол амплификации, адаптированный под приборы планшетного и роторного типа, был подобран экспериментальным путем (таблица 5.1).

Таблица 5.1 – Оптимизированный профиль амплификации для разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ

Этап	Температура, °С	Продолжительность	Детекция флуоресцентного сигнала	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, JOE/HEX	

Для проверки аналитической специфичности разработанной методики были использованы ДНК/РНК, выделенные из штаммов гетерологичных микроорганизмов и клинических образцов, а также ДНК человека. Неспецифических реакций выявлено не было (таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Аналитическая специфичность разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ

Аналит	Источник происхождения	Результат
РНК *Influenza virus B*	линия Виктория	не обнаружено
РНК *Influenza virus B*	линия Ямагата	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H1N1 pdm09*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H3N2*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H9N2*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H7N7*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H5N1*	не обнаружено
ДНК *Herpes Simplex Virus 1*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Human rhinovirus*	клинический изолят	не обнаружено
ДНК *Human adenovirus*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Human parainfluenza virus*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Measles morbillivirus*	клинический изолят	не обнаружено
ДНК *Homo sapiens*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Mumps orthorubulavirus*	**штамм *Leningrad-3***	**обнаружено**

Для определения предела обнаружения (LoD) была проведена серия экспериментов с тестированием образцов, содержание мишени в которых

находилось на уровне, а также выше и ниже расчетного значения чувствительности (каждая точка исследовалась не менее чем в пяти повторах). По итогам проведенной работы установлено: разработанный протокол позволяет надежно определять генетический материал возбудителя эпидемического паротита при его концентрации от 1000 копий (геномных эквивалентов, ГЭ) РНК в 1 мл исследуемого образца (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Аналитическая чувствительность разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ

Вид исследуемого материала	Транспортная среда	Комплект для экстракции РНК	Предел обнаружения, ГЭ/мл
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	«Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков»[1]	«РИБО-преп»[2]	$1x10^3$
		«МАГНО-сорб»[3] вариант 100-200	

П р и м е ч а н и е – продукты производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора: [1]«Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ТУ 9398-083-01897593-2009, РУ № ФСР 2009/05011 от 09.04.2019 г.), предназначенная для взятия, транспортировки и хранения мазков из верхних отделов дыхательных путей; [2]комплект реагентов «РИБО-преп», предназначенный для экстракции РНК/ДНК из клинического материала (ТУ 9398-071-01897593-2008, РУ № ФСР 2008/03147 от 24.05.2024 г.); [3]комплект реагентов «МАГНО-сорб» для выделения РНК/ДНК из биологического материала (ТУ 205952-106-01897593-2012, РУ № ФСР 2010/07265 от 19.12.2024 г.).

Повторяемость результатов, полученных в ходе тестирования разработанной методики на базе ОТ-ПЦР-РВ, оценивали путем тестирования положительных образцов в концентрации на один порядок выше предела обнаружения и отрицательных образцов. Определение сходимости предусматривало постановку десяти параллельных реакций в течение одной смены на фиксированном оборудовании и одной серии реагентов. В свою очередь, межлабораторную и межсерийную воспроизводимость результатов ОТ-ПЦР-РВ оценивали на панели отрицательных проб, а также положительных образцов, концентрация которых на один порядок превышала установленный лимит детекции. При этом аналогичный пул из 10 повторов тестировали в другой день, используя другие серии реагентов и

другой амплификатор. Критерием оценки сходимости и воспроизводимости качественного анализа служил процент совпадения положительных и отрицательных результатов (таблица 5.4).

Таблица 5.4 – Показатели повторяемости и воспроизводимости для разработанной методики ОТ-ПЦР-РВ

Тип образцов	Повторяемость		Воспроизводимость	
	количество образцов	совпадение результатов, %	количество образцов	совпадение результатов, %
Положительные	10	100	40	100
Отрицательные	10	100	40	100

С целью изучения потенциального интерферирующего влияния различных факторов на аналитические параметры оригинального протокола на основе ОТ-ПЦР-РВ, протестированы образцы биологического материала, содержащие РНК вируса эпидемического паротита в концентрации равной пределу обнаружения, без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ, концентрации которых представлены в таблице 5.5. Экстракцию РНК/ДНК из биологического материала поводили с применением комплектов «РИБО-преп» и «МАГНО-сорб».

Валидация диагностических параметров разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ, предназначенной для выявления РНК вируса эпидемического паротита, осуществлялась на панели из 60 мазков, взятых со слизистой оболочки ротоглотки. Клинический материал был получен от пациентов основной группы, чей возраст варьировался от 1 года до 46 лет при медианном значении (*Me*) 18 лет, с подтвержденными диагнозами согласно Международной классификации болезней (МКБ 10): B26 Эпидемический паротит, включая B26.0 Паротитный орхит, B26.1 Паротитный менингит, B26.3 Паротитный панкреатит, B26.9 Эпидемический паротит неосложненный. Группу контроля сформировали 60 мазков, взятых со слизистой оболочки ротоглотки у лиц в возрасте от 1 года до 53 лет (показатель медианы *Me* составил 19 лет). В данную когорту вошли пациенты с соматическими заболеваниями при отсутствии клинической симптоматики

острых инфекций. Статус участников данной группы был предварительно подтвержден серологически: метод ИФА показал отрицательные результаты при тестировании на вирусспецифические маркеры эпидемического паротита (антитела классов IgM и IgG). Сбор клинических образцов осуществляли на базе двух медицинских организаций – ГБУ РД «РЦИБ и СПИД им. С.М. Магомедова» в г. Махачкале и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москве.

Таблица 5.5 – Результаты анализа устойчивости оригинального протокола ОТ-ПЦР-РВ к интерферирующим факторам

Вид исследуемого материала	Тип потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация	Наличие интерференции
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	Эндогенные вещества	Муцин	6 мг/мл	не обнаружено
		Гемоглобин	10 мг/мл	не обнаружено
	Экзогенные вещества	Водный раствор хлоргексидина биглюконата	2,5 %	не обнаружено
		Стоматофит	20 %	не обнаружено

В роли референс-теста в рамках настоящего исследования использовали классическое прямое секвенирование по Сэнгеру. Сводное сопоставление диагностической эффективности оригинального протокола ОТ-ПЦР-РВ и результатов, полученных контрольным методом, наглядно продемонстрировано в таблице 5.6.

Таблица 5.6 – Сводные данные по сопоставлению результатов детекции оригинальным методом ОТ-ПЦР-РВ и референс-тестом

Вид исследуемого материала	Результаты тестирования			
	разработанная методика		референтный метод	
			положительных	отрицательных
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	всего исследовано 120 образцов	положительных	60	0
		отрицательных	0	60

По итогам проведенных валидационных испытаний были рассчитаны характеристики разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ. В сопоставлении с референтным методом показатели диагностической чувствительности и диагностической специфичности достигли абсолютного максимума в 100% (при этом для обоих критериев 95% ДИ составил [94,04–100%]), что наглядно отражено в таблице 5.7.

Таблица 5.7 – Определение показателей чувствительности и специфичности оригинального протокола ОТ-ПЦР-РВ

Вид исследуемого материала	Диагностическая чувствительность [ДИ 95 %]	Диагностическая специфичность [ДИ 95 %]
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	100 (94,04– 100) %	100 (94,04– 100) %

На основе предложенной методики качественного определения РНК вируса эпидемического паротита был создан набор реагентов на основе ОТ-ПЦР-РВ для лабораторной диагностики эпидемического паротита у пациентов всех возрастов.

В рамках производственных мощностей ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора осуществлен запуск и освоение серийного выпуска набора реагентов «AmpliSens® *Mumps virus*». Качество продукта было подтверждено в ходе официальных технических и клинических испытаний, по результатам которых медицинское изделие получило полный пакет разрешительной документации и было зарегистрировано в строгом соответствии с действующим законодательством Российской Федерации (регистрационный номер медицинского изделия ЕРУЛ - Г004- 00110-00/03870061, дата государственной регистрации – 2 декабря 2025 года).

Для удобства пользователей набор реагентов имеет две формы комплектации – жидкую (FRT-48F) и лиофилизированную (FRT-48L-t). Лиофилизированный формат позволяет ускорить процесс пробоподготовки, уменьшая при этом вероятность ошибки оператора и увеличивая пропускную способность

лаборатории. Дополнительным преимуществом лиофилизированного формата является транспортировка набора реагентов без «холодовой цепи» и хранение при положительных температурах, что позволяет доставлять набор в отдаленные регионы, в том числе с жарким климатом, а также использовать в мобильных лабораториях.

Кроме того, в целях автоматизации процессов обработки и интерпретации результатов ПЦР-исследования, было создано специализированное программное обеспечение. Приоритет разработки защищен заявкой № 2026613010 от 10.02.2026 года. Правовой статус подтверждается свидетельством о госрегистрации программы для ЭВМ № 2026615608 («AmpliSens® Mumps virus Soft»), официально внесенным в государственный Реестр 26.02.2026 года.

Таким образом, результатом работы стала разработка набора реагентов для выявления РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, сочетающего высокие аналитические и диагностические характеристики. Упрощение этапа интерпретации данных при сохранении высоких диагностических критериев предопределяет перспективность его широкого применения в лабораторной сети. Появление данного набора реагентов предоставляет специалистам эпидемиологического профиля новый валидированный инструмент мониторинга за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита.

5.2. Разработка методики для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита на основе петлевой изотермической амплификации

Методика основана на изотермической амплификации и предназначена для детекторов, имеющих 1 и более канал измерения флуоресценции.

Дизайн праймеров, предназначенных для выявления РНК вируса эпидемического паротита, осуществлялся по результатам сравнительного выравнивания нуклеотидных последовательностей гена размером 1748

нуклеотидов, кодирующего фермент гемагглютинин-нейраминидазу (HN) (таблица 5.8).

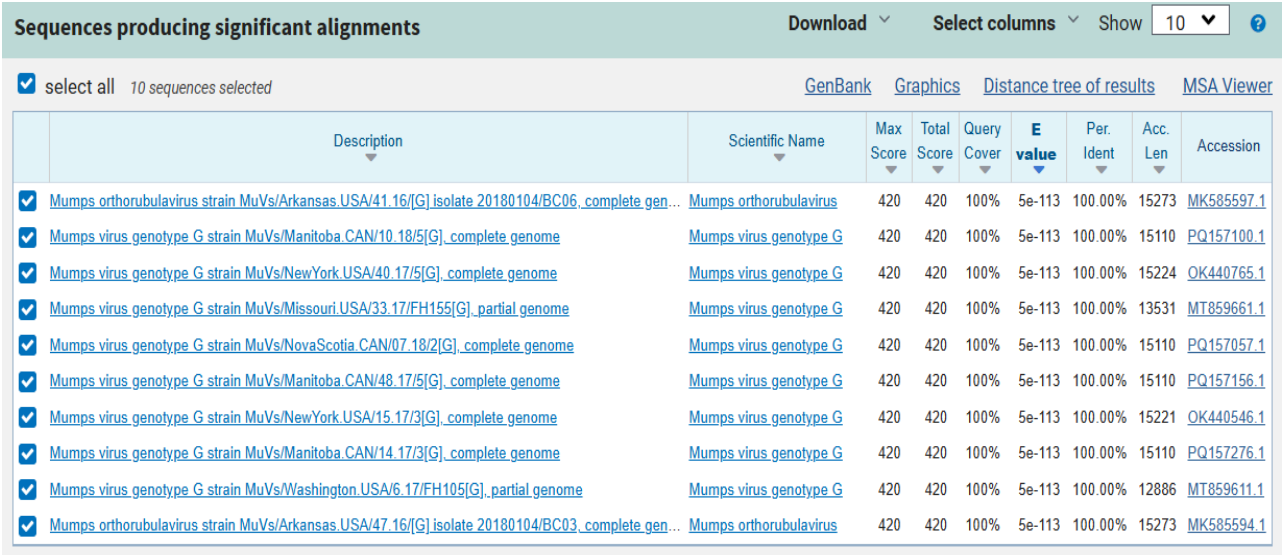
Таблица 5.8 – Нуклеотидные последовательности разработанных праймеров

Название олигонуклеотида	5’-3’ последовательность
Прямой внешний праймер (F3)	TCT GTI AAT ATG TCC TGG ATA CC
обратный внешний праймер (B3)	GCA GAG ACA TAA AGG GTA GGA T
прямой внутренний праймер (FIP)	CTG AIA CAC AAG CAG TCG GGT TCA TTC ACT CGT CCT GGT
обратный внутренний праймер (BIP)	CTT GAT CCC TGG CCA TTA ACT CCG AAT TTA ATA GTG CAC CTG TGA
прямой петлевой праймер (LF)	CAT TTT CAC CAC TGC AIT TGC CT
обратный петлевой праймер (LB)	AGC CAC CAA TCA GGI ATT AAIAGA A

Активность нейраминидазы обеспечивает эффективное распространение вируса путем диссоциации зрелых вирионов от гликопротеинов, содержащих нейраминовую кислоту. Размер амплифицируемого фрагмента составил 227 п.н. (температура плавления – 71,3 °С, GC-состав 40,1%).

Анализ молекулярной структуры подобранных олигонуклеотидных праймеров не выявил совпадений с геномами гетерологичных организмов (рисунок 5.2).

На этапе выполнения опытно-конструкторских работ были оптимизированы параметры реакционной смеси, содержащей специфические олигонуклеотидные праймеры, дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ), буферный раствор с ионами магния (Mg^{2+}), фермент Bst-полимеразу, тиоглицерол и интеркалирующий краситель. Условия проведения обратной транскрипции и изотермической амплификации (ОТ-ИТ) подбирались стандартным образом. Оптимальная программа амплификации была подобрана экспериментально (таблица 5.9).



Sequences producing significant alignments — Download — Select columns — Show 10

select all 10 sequences selected — GenBank — Graphics — Distance tree of results — MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Mumps orthorubulavirus strain MuVs/Arkansas.USA/41.16/[G] isolate 20180104/BC06, complete gen...	Mumps orthorubulavirus	420	420	100%	5e-113	100.00%	15273	MK585597.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/Manitoba.CAN/10.18/5[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15110	PQ157100.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/NewYork.USA/40.17/5[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15224	OK440765.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/Missouri.USA/33.17/FH155[G], partial genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	13531	MT859661.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/NovaScotia.CAN/07.18/2[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15110	PQ157057.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/Manitoba.CAN/48.17/5[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15110	PQ157156.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/NewYork.USA/15.17/3[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15221	OK440546.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/Manitoba.CAN/14.17/3[G], complete genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	15110	PQ157276.1
Mumps virus genotype G strain MuVs/Washington.USA/6.17/FH105[G], partial genome	Mumps virus genotype G	420	420	100%	5e-113	100.00%	12886	MT859611.1
Mumps orthorubulavirus strain MuVs/Arkansas.USA/47.16/[G] isolate 20180104/BC03, complete gen...	Mumps orthorubulavirus	420	420	100%	5e-113	100.00%	15273	MK585594.1

Рисунок 5.2 – Результаты оценки специфичности выбранной нуклеотидной последовательности с помощью инструмента BLAST

Таблица 5.9 – Программа амплификации, используемая при выполнении разработанной методики на основе ОТ-ИТ

Этап	Температура, °С	Продолжительность	Детекция флуоресцентного сигнала	Количество циклов
1	37	5 мин	–	1
2	65	30 с	FAM	40

Для оценки валидности полученных результатов использовались три контрольных образца: отрицательный контроль стадии экстракции, а также отрицательный и положительный контрольные образцы этапа амплификации.

Использование отрицательных контрольных образцов позволяло исключить появление ложноположительных сигналов, вызванных как контаминацией между исследуемыми образцами, так и контаминацией ампликонами из прошлых циклов исследований.

Положительный контрольный образец (С+) с заданной концентрацией, который является плазмидным вектором pGEM-t с клонированным в него участком генома вируса эпидемического паротита, проходит этап обратной транскрипции и амплификации вместе с исследуемыми пробами. Положительным считается

образец, чья кривая флуоресценции пересекает заданную линию порогового уровня.

Для проверки аналитической специфичности разработанной методики были использованы ДНК/РНК, выделенные из штаммов гетерологичных микроорганизмов и клинических образцов, а также ДНК человека. Неспецифических реакций выявлено не было (таблица 5.10).

Таблица 5.10 – Аналитическая специфичность разработанной методики на основе ОТ-ИТ

Аналит	Источник происхождения	Результат
РНК *Influenza virus B*	линия Виктория	не обнаружено
РНК *Influenza virus B*	линия Ямагата	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H1N1 pdm09*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H3N2*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H9N2*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H7N7*	не обнаружено
РНК *Influenza virus A*	штамм *H5N1*	не обнаружено
ДНК *Herpes Simplex Virus 1*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Human rhinovirus*	клинический изолят	не обнаружено
ДНК *Human adenovirus*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Human parainfluenza virus*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Measles morbillivirus*	клинический изолят	не обнаружено
ДНК *Homo sapiens*	клинический изолят	не обнаружено
РНК *Rubella Virus*	штамм Wistar RA 27/3M	не обнаружено
РНК *Mumps orthorubulavirus*	**штамм *Leningrad-3***	**обнаружено**

Определение аналитической чувствительности предусматривало исследование панели разведений с концентрациями вирусных частиц в диапазоне предполагаемого предела детекции (с кратностью повторов не менее пяти для каждого разведения). Валидационные испытания продемонстрировали, что разработанная методика способна выявлять РНК вируса эпидемического паротита

при минимальном пороге в 10 000 копий (геномных эквивалентов, ГЭ) на миллилитр образца (таблица 5.11).

Таблица 5.11 – Аналитическая чувствительность разработанной методики на основе ОТ-ПЦР-РВ

Вид исследуемого материала	Транспортная среда	Комплект для экстракции РНК	Предел обнаружения, ГЭ/мл
Моча	«Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков»[1]	«РИБО-преп»[2]	$1x10^4$
		«МАГНО-сорб»[3] вариант 100-200	
Плазма (сыворотка) крови	-	«РИБО-преп»	
		«МАГНО-сорб» вариант 100-200	
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	-	«РИБО-преп»	
		«МАГНО-сорб» вариант 100-200	

П р и м е ч а н и е – продукты производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора: [1]«Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ТУ 9398-083-01897593-2009, РУ № ФСР 2009/05011 от 09.04.2019 г.), предназначенная для взятия, транспортировки и хранения мазков из верхних отделов дыхательных путей; [2]комплект реагентов «РИБО-преп», предназначенный для экстракции РНК/ДНК из клинического материала (ТУ 9398-071-01897593-2008, РУ № ФСР 2008/03147 от 24.05.2024 г.); [3]комплект реагентов «МАГНО-сорб» для выделения РНК/ДНК из биологического материала (ТУ 205952-106-01897593-2012, РУ № ФСР 2010/07265 от 19.12.2024 г.).

Повторяемость результатов, полученных при использовании разработанной методики на основе ОТ-ИТ, оценивали путем тестирования положительных образцов в концентрации на один порядок выше предела обнаружения и отрицательных образцов. Для этого анализировали серию из 10 повторов в рамках одного рабочего дня, используя единую серию реагентов, один амплификатор и фиксированные лабораторные условия. В свою очередь, межлабораторную и межсерийную воспроизводимость результатов для разработанной методики на основе ОТ-ИТ оценивали на панели отрицательных проб, а также положительных образцов, концентрация которых на один порядок превышала установленный

лимит детекции. При этом аналогичный пул из 10 повторов тестировали в другой день, на другой серии реагентов и ином амплификаторе. Критерием оценки повторяемости и воспроизводимости качественного анализа служил процент совпадения положительных и отрицательных результатов (таблица 5.12).

Таблица 5.12 – Параметры повторяемости и воспроизводимости результатов качественного анализа на основе метода ОТ-ИТ

Тип образцов	Повторяемость		Воспроизводимость	
	количество образцов	совпадение результатов, %	количество образцов	совпадение результатов, %
Положительные	10	100	40	100
Отрицательные	10	100	40	100

С целью изучения потенциального интерферирующего влияния различных веществ на результаты, полученные с использованием разработанной методики ОТ-ИТ, исследовалась панель биологических образцов с вирусной нагрузкой, эквивалентной расчетному пределу обнаружения. Сравнительный анализ включал постановку реакций в пробах без ингибиторов и в присутствии потенциально интерферирующих агентов в регламентированных концентрациях (таблица 5.13). Выделение нуклеиновых кислот проводили с использованием комплектов «РИБО-преп» и «МАГНО-сорб».

Таблица 5.13 – Результаты анализа устойчивости оригинального протокола ОТ-ИТ к интерферирующим веществам

Вид исследуемого материала	Тип потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация	Наличие интерференции
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	Эндогенные вещества	Муцин	5 мг/мл	не обнаружено
		Гемоглобин	10 мг/мл	не обнаружено
	Экзогенные вещества	Водный раствор хлоргексидина биглюконата	2,5 %	не обнаружено
		Стоматофит	20 %	не обнаружено

Вид исследуемого материала	Тип потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация	Наличие интерференции
Моча	Эндогенные вещества	Муцин	5 мг/мл	не обнаружено
		Альбумин	500 мг/л	
	Экзогенные вещества	Азитромицин	1 мг/мл	не обнаружено
Плазма (сыворотка) крови	Эндогенные вещества	Гемоглобин	5 мг/мл	не обнаружено
	Экзогенные вещества	Гепарин	5 МЕ/мл	не обнаружено

Валидация диагностических параметров разработанной методики на основе ОТ-ИТ, предназначенной для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита, осуществлялась с использованием 50 образцов мазков со слизистой оболочки ротоглотки, 50 образцов плазмы (сыворотки) крови и 20 образцов мочи, полученных от больных основной когорты в возрасте 1–54 года (*Me* = 18 лет), у которых имело место документальное подтверждение патологии по официальным кодам МКБ-10: B26 Эпидемический паротит, включая B26.0 Паротитный орхит, B26.1 Паротитный менингит, B26.3 Паротитный панкреатит, B26.9 Эпидемический паротит неосложненный; а также 50 образцов мазков со слизистой оболочки ротоглотки, 50 образцов плазмы (сыворотки) крови и 20 образцов мочи, полученных от пациентов контрольной группы в возрасте 1–53 года (*Me* = 19 лет) с отягощенным соматическим статусом, но при полном отсутствии манифестных признаков острых инфекций и подтвержденном серонегативном профиле при тестировании на маркеры эпидемического паротита (вирусспецифические антитела классов IgM и IgG) методом ИФА.

Сбор образцов биологического материала осуществляли на базе двух медицинских организаций – ГБУ РД «РЦИБ и СПИД им. С.М. Магомедова» в г. Махачкале и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москве.

В качестве референтного метода для сопоставления результатов с ОТ-ПЦР-РВ при использовании мазков со слизистой оболочки ротоглотки выступал набор реагентов «AmpliSens® *Mumps virus*», для плазмы (сыворотки) крови и мочи

верификацию проводили классическим методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Итоговая степень согласованности результатов предложенного подхода ОТ-ИТ с референсными критериями систематизирована в таблице 5.14.

Таблица 5.14 – Сводные данные по сопоставлению результатов детекции оригинальным методом ОТ-ИТ и референтными методами

Вид исследуемого материала	Результаты тестирования			
	разработанная методика		референтный метод	
			положительных	отрицательных
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	всего исследовано 100 образцов	положительных	50	0
		отрицательных	0	50
Моча	всего исследовано 40 образцов	положительных	20	0
		отрицательных	0	20
Плазма (сыворотка) крови	всего исследовано 100 образцов	положительных	50	0
		отрицательных	0	50

По итогам проведенных валидационных испытаний были рассчитаны характеристики разработанной методики на основе ОТ-ИТ. Результаты сопоставления показателей диагностической чувствительности и специфичности отражены в таблице 5.15.

Таблица 5.15 – Диагностические характеристики разработанной методики на основе ОТ-ИТ

Вид исследуемого материала	Диагностическая чувствительность [ДИ 95 %], %	Диагностическая специфичность [ДИ 95 %], %
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	100 [92,89– 100]	100 [92,89– 100]
Моча	100 [83,16– 100]	100 [83,16– 100]
Плазма (сыворотка) крови	100 [92,89– 100]	100 [92,89– 100]

Таким образом, разработана методика для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита в биологическом материале посредством изотермической амплификации с регистрацией флуоресцентного сигнала в реальном времени, характеризующаяся высоким уровнем чувствительности и специфичности. Правовая охрана разработанного методического подхода закреплена в установленном порядке – получен патент № 2850880 на «Набор олигонуклеотидных праймеров для выявления РНК вируса эпидемического паротита» от 15 сентября 2025 года.

Анализ и интерпретация результатов исследования с помощью разработанной методики на основе ОТ-ИТ отличаются простотой и высокой скоростью при сохранении приемлемой диагностической чувствительности, что позволяет увеличить пропускную способность научных лабораторий и расширить список используемого биоматериала. Разработанная методика также может применяться в качестве экспресс-метода оценки вирусной нагрузки в образцах перед отправкой на секвенирование.

***

Таким образом, в ходе проведенного исследования были успешно разработаны и валидированы две методики, основанные на обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени и петлевой изотермической амплификации. Первая методика доработана в коммерческий набор реагентов «AmpliSens® *Mumps virus*», зарегистрированный в качестве медицинского изделия. Вторая методика характеризуется простотой исполнения, высокой скоростью получения результата и возможностью использования расширенного спектра биологического материала, она зарекомендовала себя в качестве эффективного экспресс-метода скрининговой оценки вирусной нагрузки в образцах, в том числе для быстрого выбора проб перед их направлением на секвенирование.

С эпидемиологической точки зрения внедрение обеих методик открывает новые возможности эпидемиологического надзора за инфекцией, позволяя

эффективно выявлять РНК вируса эпидемического паротита на самых ранних стадиях инфицирования, когда серологические маркеры еще не успели выработаться в достаточном количестве. Высокая чувствительность разработанных методик позволяет выявлять РНК вируса у лиц с бессимптомным и субклиническим течением, это важно, поскольку данные лица зачастую остаются вне поля зрения медицинских работников, но при этом активно поддерживают скрытую циркуляцию вируса среди населения. Кроме того, данные молекулярные тесты незаменимы для диагностики заболевания у ранее вакцинированных лиц, клиническая картина у которых часто стерта, а выявление специфических иммуноглобулинов затруднено. Внедрение разработанного комплекса методик обеспечивает эпидемиологическую службу надежными диагностическими инструментами для выявления случаев заболевания с целью оперативного проведения противоэпидемических мероприятий в отношении не только явных, но и скрытых источников возбудителя инфекции.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ВИРУСА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА МЕТОДОМ СЭНГЕРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

В условиях высокого охвата вакцинацией традиционный молекулярно-генетический мониторинг за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, основанный на секвенировании гена *SH*, все чаще оказывается недостаточно информативным. Низкая вариабельность этого локуса внутри доминирующего генотипа G затрудняет дифференциацию завозных и местных случаев и не позволяет детально реконструировать пути распространения вируса. С учетом изложенного обоснованным представляется переход к таргетному секвенированию, включающему анализ наиболее быстро эволюционирующих участков генома.

На основании полученных в Главе 4 данных о недостаточной разрешающей способности генотипирования по гену *SH*, была обоснована необходимость расширения анализируемых областей вирусного генома. В рамках настоящей главы представлены результаты практического применения разработанных нами методик мультилокусного секвенирования, позволивших существенно повысить точность филогенетического анализа.

6.1. Секвенирование геномных некодирующих областей вируса эпидемического паротита

С целью повышения разрешающей способности филогенетического анализа нами была разработана методика мультилокусного секвенирования вируса эпидемического паротита с использованием новых молекулярных маркеров, характеризующихся высокой скоростью накопления мутаций. На первом этапе разработки был проведен биоинформатический анализ полногеномных последовательностей вируса эпидемического паротита, депонированных в международную базу данных GenBank (NCBI).

Были проанализированы последовательности штаммов тех генотипов, которые циркулировали в мире в течение последних семи лет. Некодирующие области генома, такие как *NP-NCR, PM-NCR* и *MF-NCR,* были выбраны в качестве наиболее перспективных. Данные участки отличаются высокой способностью к накоплению филогенетически значимых мутаций, что позволит лучше разделять близкородственные штаммы внутри одного генотипа, которые невозможно дифференцировать с помощью рутинного секвенирования гена *SH*.

Было проведено множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей, на основе результатов которого подобраны праймеры для амплификации. При подборе олигонуклеотидов учитывали отсутствие вторичных структур и термодинамические параметры выбранных последовательностей. В результате нами были подобраны одинаковые условия проведения ПЦР для всех пар праймеров. Необходимо также отметить, что высокой комплиментарности ко всем циркулирующим в настоящее время генотипам вируса удалось добиться благодаря введению инозина в вариабельные позиции нуклеотидов.

Ампликоны, полученные с помощью подобранных пар праймеров, полностью перекрывают некодирующие области генома вируса эпидемического паротита между генами *N* и *P*, *P* и *M*, *M* и *F*. Полученные размеры ампликонов оптимальны для последующего секвенирования методом Сэнгера (таблица 6.1).

Таблица 6.1 – Нуклеотидные последовательности подобранных праймеров

Локус	Направление	Последовательность праймера (5'→3')	Длина ампликона (п.н.)
NP-NCR	Forward	GATITATTACGATACAACGAIAAIGG	774
	Reverse	GTCTATGCCCTCCTCTTGGAT	
PM-NCR	Forward	GTCCCAGTIGATGAGCTTAGIAG	759
	Reverse	CACTIGCTGTCTTCCGAAC	
MF-NCR	Forward	CITCACCATCGTTIGCGAAGA	504
	Reverse	GTIITCAGTGGGTTGGATATTAGG	

В ходе разработки методики был также оптимизирован состав реакционной смеси. Подобрано наилучшее соотношение специфических олигонуклеотидов и дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (dNTP), состав буферного раствора с полимеразой Taq и ионами магния (Mg^{2+}).

Параметры реакции амплификации подбирали экспериментальным путем (таблица 6.2).

Таблица 6.2– Параметры амплификации

Этап	Температура, °С	Продолжительность	Количество циклов
1	95	2 мин	1
2	95	15 с	40
	55	30 с	
	72	1 мин	
3	72	1 мин	1

После оптимизации параметров разработанная методика была валидирована на образцах биологического материала. Мазки со слизистой оболочки ротоглотки были собраны в 2024-2025 гг. в Республике Дагестан. Предварительно была определена вирусная нагрузка методом изотермической амплификации, после чего 18 клинических образцов были амплифицированы и генотипированы по локусу *SH*. Далее с этими образцами провели ПЦР с использованием новых праймеров и проанализировали полученные ампликоны с помощью секвенирования по Сэнгеру. Все нуклеотидные последовательности были загружены в национальную базу данных VGARus. Для проведения углубленного филогенетического анализа была сформирована комбинированная последовательность, включающая данные по четырем локусам (*SH* и *NCR*). В итоговое выравнивание также были включены референсные последовательности ВОЗ для генотипов G и C и нуклеотидные последовательности основных вакцинных штаммов (*Leningrad-3*, *L-Zagreb, Jeryl Lynn*).

Филогенетический анализ, результаты которого в виде реконструированных деревьев приведены на рисунках 6.1 и 6.2, реализован с помощью функционала

пакета MEGA X посредством метода Maximum Likelihood (максимального правдоподобия). Топология ветвления рассчитывалась для нуклеотидных последовательностей гена *SH*, а также сочетанных (конкатенированных) локусов *SH* и *NCR*. Верификация эволюционных дистанций базировалась на нуклеотидной модели замен General Time Reversible с интеграцией параметров гамма-распределения и фиксированной доли инвариантных сайтов (G+I). Надежность ветвления проверяли методом бутстрэп (1000 реплик).

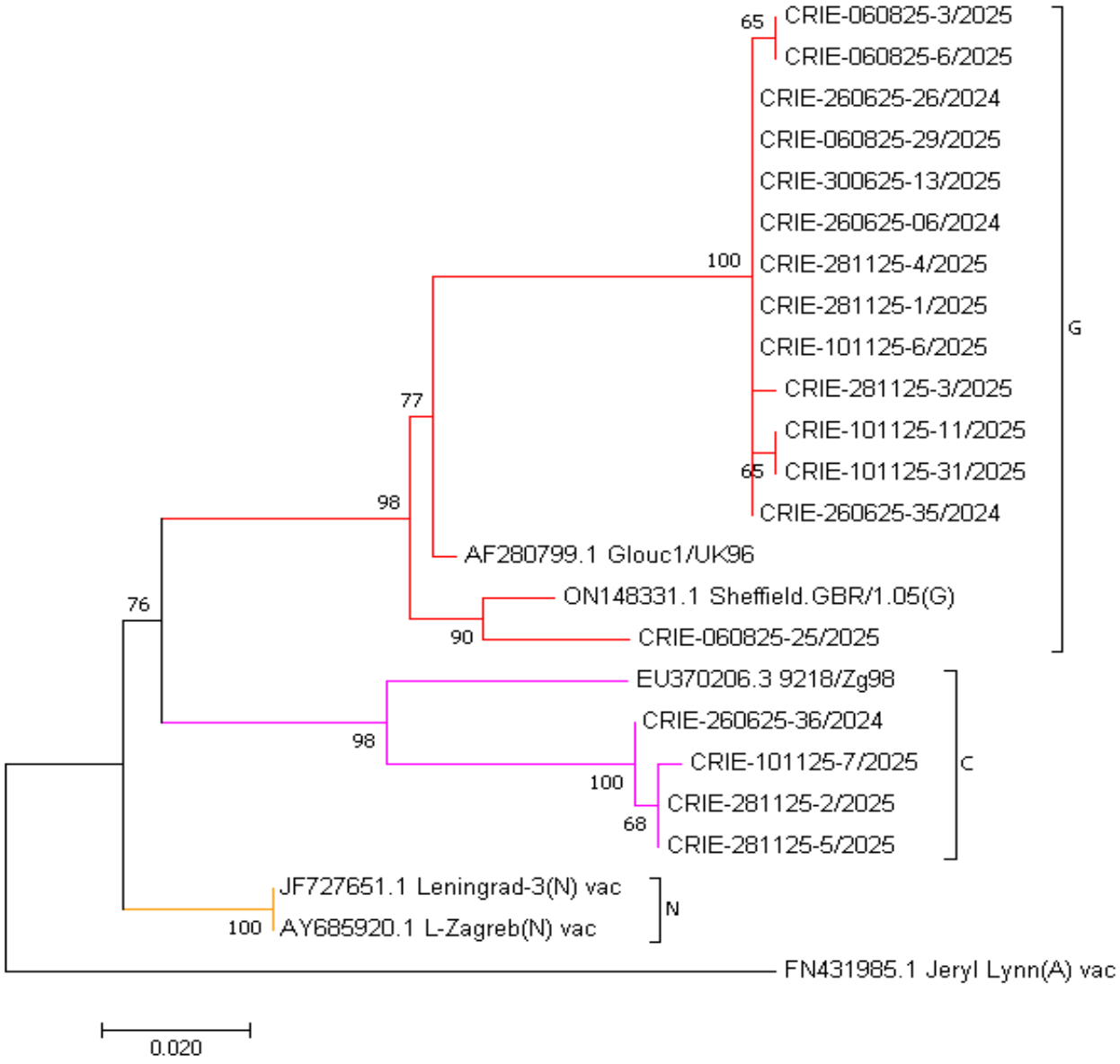


Рисунок 6.1 – Филогенетическое дерево изолятов вируса эпидемического паротита по фрагменту *SH*



Рисунок 6.2 – Филогенетическое дерево изолятов вируса эпидемического паротита по данным авторского мультилокусного анализа

На филогенетическом дереве, построенном на основе мультилокусного анализа, большинство исследуемых образцов удалось дифференцировать. Образцы генотипа G разделились на несколько субкластеров с достаточно высокой статистической поддержкой.

На рисунке основная масса образцов, собранных в период с 2024 по 2025 гг., формирует упорядоченную ветвь. Это говорит об идущих микроэволюционных процессах в условиях местной циркуляции возбудителя. Отдельного рассмотрения требует образец CRIE-060825-25/2025. Данный изолят на филогенетическом дереве значительно дистанцирован от других образцов. Рядом располагается референсный штамм из Великобритании. Такой характер ветвления предположительно свидетельствует о наличии не только местных цепочек передачи возбудителя, но и о существовании независимых случаев импортирования.

Сопоставив рисунки 6.1 и 6.2, можно наглядно увидеть различие в разрешающей способности двух подходов к секвенированию. Если на филогенетическом дереве, которое построено по локусу *SH,* большинство образцов, собранных в Республике Дагестан, образуют однородный кластер с минимальным ветвлением, то включение в анализ некодирующих областей генома заметно улучшает результаты филогенетической реконструкции. В первом случае установка эпидемиологических связей затруднена, поскольку различия в гене малого гидрофобного белка между родственными штаммами минимальны, особенно в условиях высокого охвата вакцинацией. Напротив, секвенирование некодирующих областей, в которых накопление мутаций происходит быстрее, обеспечивает достаточный уровень вариабельности для того, чтобы можно было успешно дифференцировать подобные образцы.

Для вируса эпидемического паротита актуальной задачей является выявление скрытой гетерогенности в популяции возбудителя. Решить данную задачу возможно именно с помощью разработанной методики мультилокусного секвенирования. В отличие от подхода, используемого в настоящее время, секвенирование по новым локусам позволит оценивать риски распространения возбудителя при доминировании одного генотипа.

По результатам работы была подана заявка на патент Российской Федерации № 2025135279, в которой описан Способ секвенирования геномных некодирующих областей вируса эпидемического паротита и набор синтетических олигонуклеотидов для его реализации.

6.2. Секвенирование гена *HN*

Ген *HN* кодирует белок гемагглютинин-нейраминидазу. Важность данного гена для эпидемиологического надзора возрастает из-за снижения генетического разнообразия вируса эпидемического паротита.

Гемагглютинин-нейраминидаза является поверхностным гликопротеином и отвечает за адсорбцию вируса на сиаловых рецепторах. Кроме того, данный белок ответственен за высвобождение вирионов и является основной мишенью для нейтрализующих антител. Эффективность вакцинопрофилактики зависит, в том числе, от его генетической стабильности. Эпидемическим паротитом болеют, главным образом, непривитые, однако в популяциях с высоким охватом вакцинацией также описаны случаи заболевания, и этот факт может быть связан с накоплением мутаций в нейтрализующих эпитопах вируса. Возбудитель с такими свойствами способен частично уходить от иммунного ответа. Все это обосновывает необходимость изучать стабильность поствакцинального иммунитета.

Поскольку генетические различия между циркулирующими штаммами вируса и вакцинными штаммами, такими как *Jerryl Lynn*, *Leningrad*-3 или *Urabe,* могут потенциально влиять на эффективность гуморального иммунного ответа, исследование гена гемагглютинин-нейраминидазы приобретает особую актуальность.

Для обнаружения мутаций в функционально значимых доменах белка мы разработали набор олигонуклеотидных праймеров для амплификации гена *HN*. Необходимость анализа вариабельности этого гена обусловлена задачей своевременного обнаружения тех вариантов вируса, которые потенциально способны уходить от действия нейтрализующих антител. Все это является особенно важным для оценки актуальности антигенного состава применяемых вакцин.

Мы взяли за основу протокол Gouma et al. [81], оптимизировали его и сделали менее трудоемким. Исходный вариант был основан на методе вложенной ПЦР и для амплификации гена *HN* предполагалось использование восьми праймеров. В

отличие от описанного протокола, созданная нами методика позволяет в процессе одной постановки ПЦР с использованием всего двух пар праймеров получать полноразмерную последовательность данного гена (таблица 6.3).

Таблица 6.3 – Нуклеотидные последовательности подобранных праймеров

Локус	Направление	Последовательность праймера (5'→3')	Длина ампликона (п.н.)
HN1	Forward	TCCTTAI CCCTACAAATT	786
	Reverse	CACGCTGATCTAAATCTIGTTGT	
HN2	Forward	CCACAACAAGATTTA GATCAIGCGT	676
	Reverse	CTGGTTAGCACAGGTAGAATTTIGA	

Состав реакционной смеси и программу амплификации оптимизировали экспериментально аналогично п. 6.1.

Разработанная методика анализа антигенной изменчивости была валидирована на клинических образцах, собранных в 2025 году в Республике Дагестан. Из коллекции ранее генотипированных по локусу *SH* образцов были выбраны семь изолятов, принадлежащие к разным генотипам и разным вариантам внутри генотипа G. Далее с помощью двух пар праймеров проведена амплификация перекрывающихся локусов *HN*1 и *HN*2.

Полученные ампликоны секвенировали методом Сэнгера, а нуклеотидные последовательности загружали в национальную базу геномов VGARus.

Комбинированные последовательности *HN*, полученные путем объединения двух фрагментов *HN*1 и *HN*2, использовали для построения филогенетического дерева (рисунок 6.3). Кроме полученных последовательностей, в множественное выравнивание добавили референсные штаммы ВОЗ генотипов G и C, а также нуклеотидные последовательности вакцинных штаммов *Leningrad-3*, *L-Zagreb* и *Jeryl Lynn*.

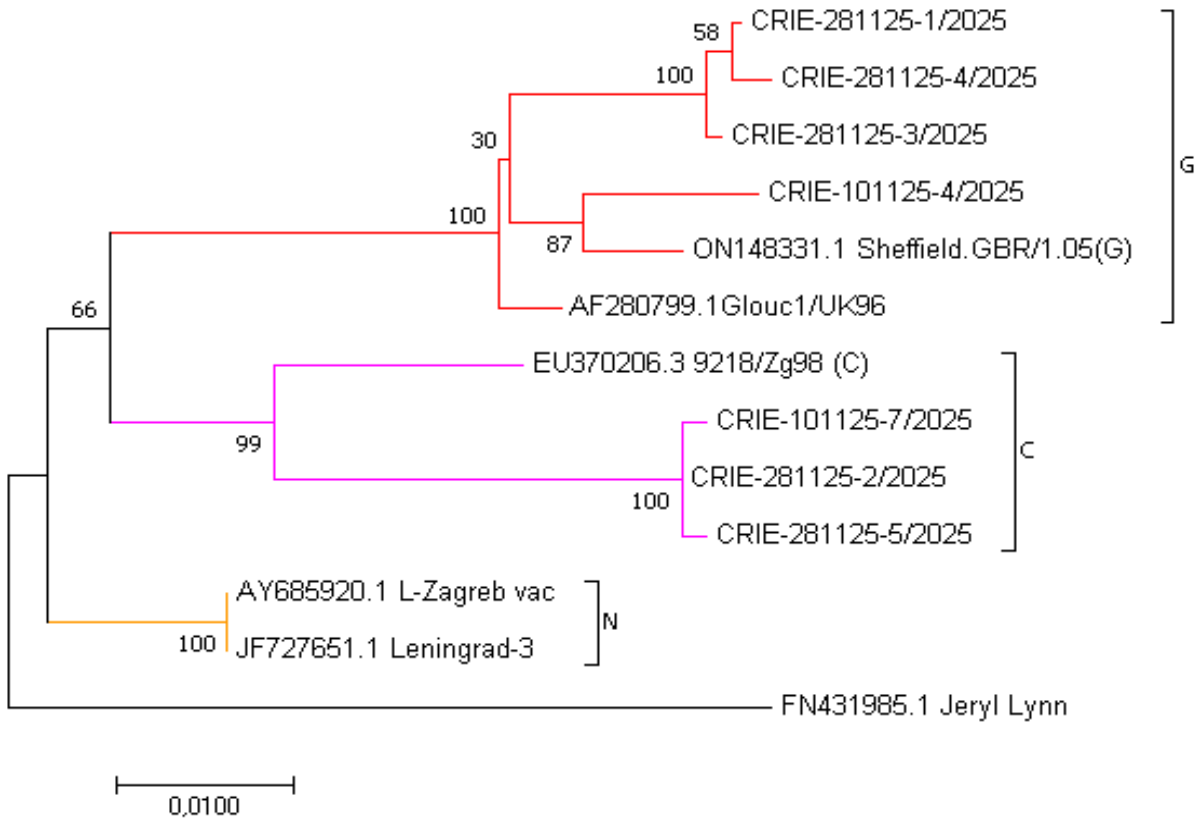


Рисунок 6.3 – Филогенетическое дерево изолятов вируса эпидемического паротита (локус HN). Метод Maximum Likelihood, модель G+I. Bootstrap - 1000 реплик.

Разработанная методика с использованием авторских праймеров позволила получить последовательности гена *HN* протяженностью до 1462 нуклеотидов. В дальнейшем это позволило провести анализ изменений в функциональных доменах белка, в том числе в известных нейтрализующих эпитопах.

Проведение анализа аминокислотных замен в первичной структуре белка гемагглютинин-нейраминидазы особенно важно, поскольку анализ именно аминокислотных последовательностей позволяет обнаружить в антигенно значимых сайтах такие не синонимичные мутации, которые потенциально могут привести к конформационным изменениям белка или к изменению его рецепторной специфичности.

Мы преобразовали полученные нуклеотидные последовательности в аминокислотные и выполнили множественное выравнивание изучаемых изолятов с вакцинными штаммами *Leningrad-3, L-Zagreb* и *Jeryl Lynn*, а также с референсными штаммами генотипов G и C. Для выравнивания использовали алгоритм ClustalW в программе MEGA X. Нами были проанализированы сайты N-гликозилирования, регионы стимуляции слияния, участки рецепторного связывания, а также домены, ответственные за нейраминидазную активность, локусы нейровирулентности и известные B- и T-клеточные эпитопы. Проанализированные позиции аминокислот в функционально значимых регионах согласно нумерации для штамма *Jeryl Lynn* приведены в таблице 6.4.

Таблица 6.4 – Функционально значимые регионы белка HN

Функциональный регион	Позиции аминокислот
Сайты N-гликозилирования	127–129, 176–178, 284–286, 329–331, 400–402, 448–450, 464–466, 507–509, 514–516
Регионы стимуляции слияния	102, 104, 111, 118, 222, 226, 228, 230, 567, 571
Участки рецепторного связывания	162, 175, 226, 228, 230, 335, 407, 422, 530, 531, 533, 540, 566, 567, 575
Домены нейраминидазной активности	180, 204, 239, 264, 268, 303, 407, 422, 466, 512, 540, 551, 561
Локусы нейровирулентности	360, 466
Известные B-клеточные эпитопы	113–130, 199–207, 220–240, 261–266, 327–363, 375–403, 440–443, 533
Известные T-клеточные эпитопы	279, 287

Для штаммов вируса эпидемического паротита, циркулирующих в Российской Федерации в период 2024-2025 гг. нами было впервые проведено сравнительное изучение доменов белка HN. Основным отличием проведенного исследования является охват большего количества вакцинных генотипов. Кроме международного стандарта *Jeryl Lynn* мы впервые включили в анализ штаммы *Leningrad*-3 и *L-Zagreb*. Выбор вакцинные штаммов был обусловлен

особенностями Национального календаря профилактических прививок Российской Федерации. Вакцинный штамм *Leningrad*-3 в настоящее время является основным для массовой вакцинации населения в стране, в то время как препараты на основе штамма *Urabe AM9* полностью исключены из отечественной практики здравоохранения из-за повышенного риска развития поствакцинальных осложнений в виде асептических менингитов. В связи с этим штамм *Urabe AM9* в работу не включали.

Большинство исследуемых регионов оказались высококонсервативными. Тот факт, что аминокислотные замены не были обнаружены в сайтах N-гликозилирования, участках нейраминидазной активности, а также доменах стимуляции слияния позволяет сделать предположение о сохранности фундаментальных биологических свойств вируса, таких как скорость инфицирования и тропизм, у циркулирующих в настоящее время генотипов G и C.

Однако в структуре известных B-клеточных эпитопов нам удалось обнаружить несинонимичные замены, которые могут свидетельствовать о процессах антигенного дрейфа. В эпитопе 375-403 у всех циркулирующих штаммов присутствовала аминокислотная замена валина на изолейцин в положении 375 (V375I). Остальные мутации у генотипов G и C отличались. Так, в образцах генотипа G была выявлена замена аспарагина на серин в позиции 399 (N399S) и замена лейцина на метионин в позиции 403 (L403M), а также полиморфизм в позиции 337 (A337T и A337P). Замена аланина на жесткий остаток пролина теоретически способна создавать изгибы и нарушать конформацию белка, вызывая перестройки антигенной детерминанты. Для образцов генотипа C оказались характерны замены серина на пролин позиции 351 эпитопа 327-363 и валина на изолейцин в позиции 396 эпитопа 375-403 (рисунок 6.4). В остальных известных эпитопах мутации не выявили.

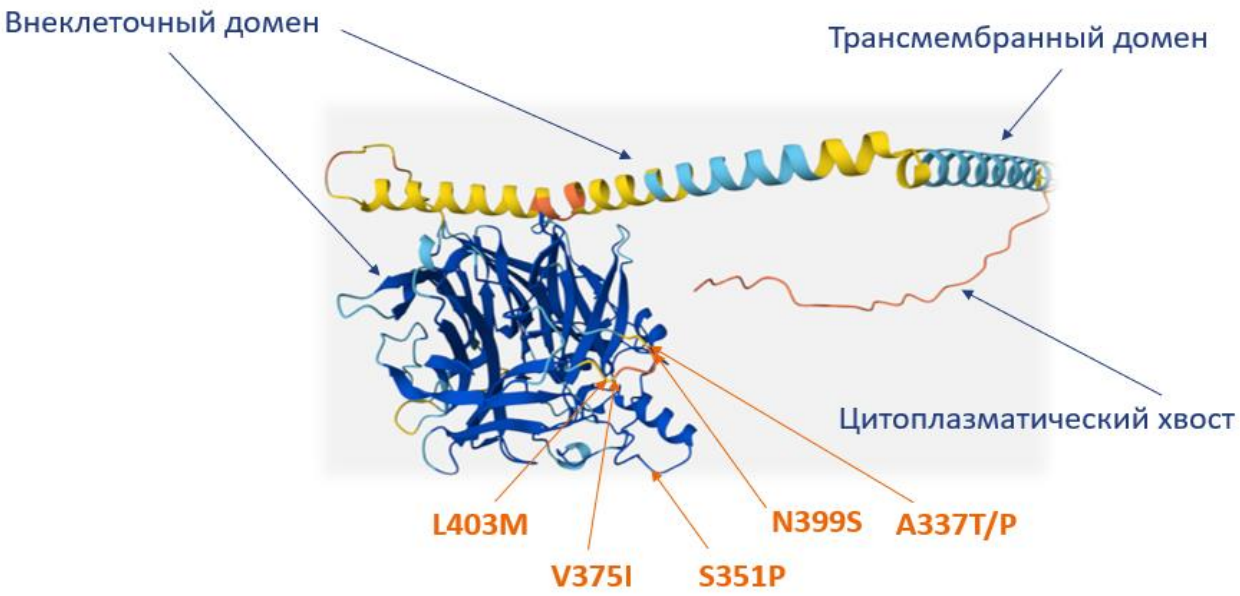


Рисунок 6.4 – Консервативные и вариабельные домены белка HN вируса эпидемического паротита (визуализация и картирование выполнены автором на основе прогностической пространственной модели платформы Viro3D по эталонной белковой последовательности UniProt ID: P11235)

Обнаруженные мутации в В-клеточных эпитопах 327-363 и 375-403 говорят об антигенном расхождении диких вариантов вируса эпидемического паротита и вакцинных штаммов *Leningrad-3*, *L-Zagreb* и *Jeryl Lynn*, генотипы которых на протяжении длительного времени не циркулируют в популяции. Накопленные в значимых доменах белка гемагглютинин-нейраминидазы структурные изменения могут выступать в качестве молекулярных предпосылок для частичного ухода возбудителя от действия нейтрализующих антител. Однако данная гипотеза может быть подтверждена только с помощью серологических исследований, например, в реакции нейтрализации.

Практическая значимость исследования мутаций в гене *HN* заключается в своевременном обнаружении вариантов вируса с измененным антигенным профилем. Такие результаты могут быть использованы для оценки эффективности программ иммунизации и объективного прогнозирования эпидемической ситуации в стране.

***

Таким образом, в Главе 6 была обоснована необходимость перехода с рутинного секвенирования гена *SH* к более информативному подходу. Разработана методика мультилокусного секвенирования, которая в дополнение к фрагменту *SH* включает анализ трех быстро эволюционирующие некодирующих областей генома между генами *N* и *P, P* и *M,* а также *M* и *F*. Филогенетический анализ этих объединенных последовательностей показал, что новый подход дает более высокую разрешающую способность по сравнению с рутинным протоколом.

Дополнительно оптимизирован протокол секвенирования гена *HN*, позволяющий амплифицировать участок, содержащий большую часть функционально значимых доменов белка.

Впервые выполнен сравнительный анализ актуальных российских изолятов 2024-2025 гг. с вакцинными штаммами, включая используемый в отечественных вакцинах штамм *Leningrad*-3. При высокой консервативности основных биологически значимых сайтов, в В-клеточных эпитопах (области 327-363 и 375-403) обнаружены несинонимичные замены, указывающие на продолжающуюся антигенную дивергенцию и создающие предпосылки для возможного ускользания от поствакцинального иммунитета. Внедрение предложенных методик в систему эпидемиологического надзора обеспечивает более детальную филогенетическую реконструкцию и оценку антигенного соответствия циркулирующих штаммов вакцинным препаратам, что необходимо для объективного прогнозирования эпидемической ситуации и контроля эффективности вакцинопрофилактики.

ГЛАВА 7. НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ НАПРАВЛЕНИЙ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА, НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Эффективность функционирования современной системы эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом напрямую зависит от своевременности интеграции в ее структуру новых диагностических технологий. Существующая в настоящее время модель надзора во многом продолжает опираться на традиционные клинико-эпидемиологические подходы, разработанные в эпоху доминирования мониторинга манифестных форм инфекции, которые в современных условиях массовой вакцинопрофилактики требуют глубокой модернизации на основе молекулярно-биологических методов. Теоретической основой для проведения такой модернизации выступает фундаментальная социально-экологическая концепция эпидемического процесса, сформулированная академиком Б.Л. Черкасским. При этом, согласно структурно-функциональной концепции эпидемиологического надзора, предложенной академиком В.Д. Беляковым, система эпидемиологического надзора представляет собой строго структурированную динамическую модель, состоящую из трех взаимосвязанных подсистем: информационной, диагностической и управленческой [3, 4, 42]. Настоящее исследование направлено на совершенствование информационного обеспечения надзора за счет практического внедрения и оптимизации молекулярно-генетического мониторинга, что позволяет принципиально расширить аналитические возможности эпидемиологической диагностики и, в конечном итоге, существенно повысить прогностическую ценность всей системы эпидемиологического надзора за данной инфекцией (рисунок 7.1).

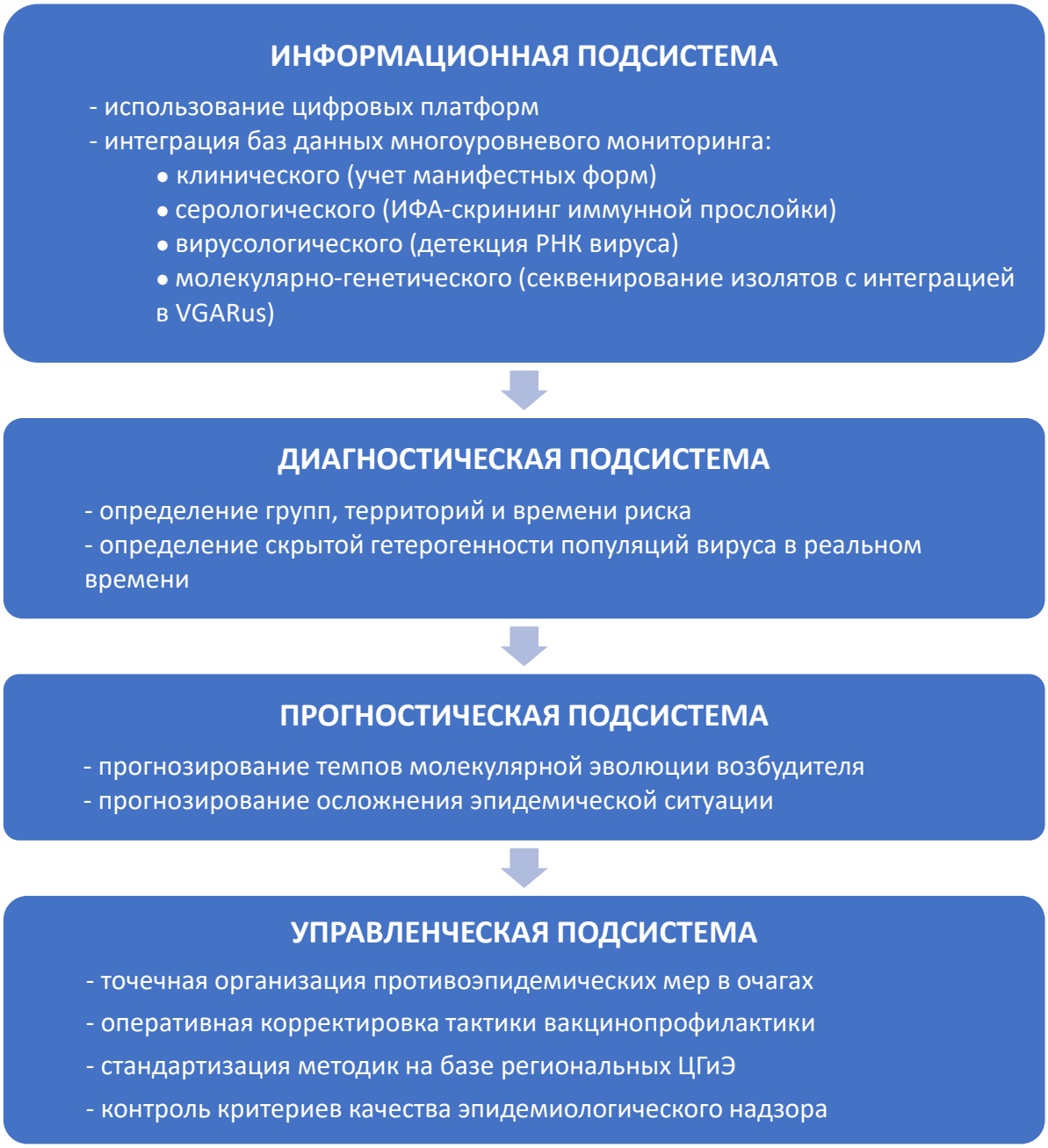


Рисунок 7.1 – Совершенствование системы эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита

Оптимизация эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом должна осуществляться по аналогии с действующей системой надзора за корью и краснухой и интегрироваться в нее на основе единых методологических подходов, в том числе в сфере молекулярно-генетического мониторинга. Учитывая общность тактики специфической профилактики с использованием комбинированных

вакцин, целесообразна унификация критериев оценки качества эпидемиологического надзора (по аналогии с корью и краснухой).

Внедрение принципов активного эпидемиологического надзора, предусматривающего выявление и обязательное лабораторное обследование всех лиц с подозрением на инфекцию (включая атипичные и стертые формы), нуждается в адаптации основных индикаторов качества. Аналогичные критерии для кори и краснухи описаны в п. 5.4.1 методических указаний МУ 3.1.2.4075-24. С учетом появления современных лабораторных инструментов нами предложены индикаторы качества эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом. Показатели лабораторной диагностики и своевременности расследования включают проведение эпидемиологического расследования в течение 48 часов с момента выявления случая, установление источника инфекции, лабораторное подтверждение подозрительных случаев, обеспечение приемлемого качества отбираемого биоматериала, а также своевременную выдачу результатов исследований. Целевой уровень качества для всех перечисленных пунктов установлен на отметке не менее 80%. Специализированными индикаторами являются генотипирование штаммов возбудителя в очагах и оценка чувствительности системы активного надзора по показателю частоты отмененных случаев заболевания, то есть случаев, не подтвержденных лабораторно. Генотипированием должно быть охвачено не менее 80% зарегистрированных цепочек передачи, а критерием качества по частоте отмененных случаев служит показатель не менее 2 на 100 тыс. населения.

Предложенная модель опирается на модернизированную организационно-функциональную структуру эпидемиологического надзора, которая определяет порядок информационного взаимодействия между ведомствами, а также маршрутизацию лабораторных исследований как на муниципальном и региональном, так и на федеральном уровне.

Медицинские организации системы здравоохранения осуществляют первичное выявление больных, определяют круг контактных лиц, проводят отбор биологического материала и передают экстренные извещения. Учреждения

службы Роспотребнадзора базе региональных ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии выполняют первичный молекулярный скрининг методом ПЦР и маршрутизацию положительных проб. На федеральном уровне в Референс-центре и профильных научно-исследовательских институтах проводится секвенирование образцов, углубленный филогенетический анализ, загрузка нуклеотидных последовательностей в базу VGARus и эпидемиологическое прогнозирование. В рамках обратной информационной связи сведения о границах очагов и аналитические прогнозы передаются в территориальные органы Роспотребнадзора и органы управления здравоохранением, что обеспечивает оперативную корректировку профилактических и противоэпидемических мероприятий.

За непрерывный сбор, первичную обработку и передачу всех видов эпидемиологических данных в концепции В. Д. Белякова (1985 г.) отвечает информационная подсистема. Качество ее функционирования и глубина последующего эпидемиологического анализа определяются своевременностью и полнотой сбора первичной информации.

Одним из базовых элементов информационного обеспечения является клинический мониторинг заболеваемости. Однако, поскольку в последние годы эпидемический паротит характеризуется высокой долей стертых, атипичных и субклинических форм, рутинная клиническая регистрация только манифестных случаев (сопровождающихся увеличением околоушных слюнных желез и общей интоксикацией) утрачивает свою информативность. Такой подход не позволяет объективно оценить реальный масштаб циркуляции патогена в популяции. В то же время клинические проявления эпидемического паротита схожи с острыми сиалоаденитами иной этиологии. Сходную симптоматику могут давать другие вирусы (например, парагриппа, гриппа, Эпштейна-Барр и др.), а также бактериальные агенты. Все это способно существенно снижать точность клинической диагностики и приводить к накоплению ложноположительных случаев в общей структуре заболеваемости эпидемическим паротитом, что в итоге снижает качество эпидемиологического мониторинга в системе

эпидемиологического надзора, затрудняет объективную оценку текущей эпидемической ситуации и делает невозможным дальнейшее ее прогнозирование.

Для преодоления перечисленных ограничений клинического и эпидемиологического мониторингов необходимо внедрять молекулярно-биологические методы в информационную подсистему эпидемиологического надзора. Сегодня основным методом лабораторной диагностики остается иммуноферментный анализ (ИФА), однако у серологической диагностики эпидемического паротита имеются существенные ограничения. В первые дни болезни метод ИФА недостаточно чувствителен и часто дает ложноотрицательные результаты. Кроме того, для данного метода характеры перекрестные реакции с другими вирусами и имеет очень низкую диагностическую ценность при обследовании у ранее привитых лиц.

Методика на основе полимеразной цепной реакции, разработанная и валидированная в ходе диссертационной работы, обеспечивает прямую детекцию высококонсервативных участков РНК вируса в биологических образцах. Тестирование методом ПЦР дает возможность проводить этиологическую расшифровку эпидемического паротита уже с первых суток проявления клинических симптомов и даже в инкубационном периоде (например, при обследовании контактных лиц в очагах инфекции). Высокая диагностическая чувствительность разработанной методики обеспечивает надежное подтверждение диагноза не только при типичном течении, но и при инаппарантных формах. Это необходимо для раннего выявления скрытых источников возбудителя и прерывания цепочек его передачи.

Модернизация информационной подсистемы повышает эффективность противоэпидемических мероприятий. Внедрение методов амплификации нуклеиновых кислот ускоряет выявление всех инфицированных, включая лиц со стертыми и бессимптомными формами болезни. В свою очередь, молекулярно-генетический мониторинг позволяет устанавливать эпидемические связи между спорадическими случаями в разных регионах страны или отдельными очагами на

основе идентичности нуклеотидных последовательностей вируса. Такой подход дает возможность точно определять реальные границы очага.

Отдельного внимания заслуживает применение молекулярно-биологических методов в в пренатальной и неонатальной диагностике. С помощью ПЦР удается достоверно подтвердить случаи внутриутробного инфицирования плода вирусом эпидемического паротита, тогда как стандартные серологические тесты в этот период малоинформативны из-за циркуляции материнских антител (IgG).

Использование разработанных методик секвенирования позволяет заменить фрагментарные научные исследования системным мониторингом эволюции возбудителя. Регулярное генотипирование регламентированной доли лабораторно подтвержденных случаев (согласно индикаторам качества надзора не менее 80% цепочек передачи) во всех субъектах Российской Федерации и последующий биоинформатический анализ позволяют непрерывно отслеживать генетическую изменчивость вируса. Это необходимо для оценки соответствия антигенного состава вакцин, применяемых в рамках Национального календаря профилактических прививок, актуальным генотипам возбудителя. Выявление мутаций в генах поверхностных гликопротеинов позволяет прогнозировать риски частичного ускользания циркулирующих штаммов от поствакцинального иммунного ответа и научно обосновывать необходимость актуализации состава вакцин.

Применение биоинформатических алгоритмов, основанных на филогенетическом анализе нуклеотидных последовательностей из международных баз данных (например, GenBank) и национальной платформы VGARus, переводит эпидемиологическое расследование на молекулярный уровень. Оценка эволюционных параметров вируса по генетическим дистанциям и топологии филогенетических деревьев служит надежным инструментом для разграничения местных цепочек передачи возбудителя и спорадических завозных случаев из-за рубежа.

Автоматизация процессов сбора данных на базе Единой информационно-аналитической системы (ЕИАС) Роспотребнадзора обеспечивает накопление

и систематизацию результатов многоуровневого мониторинга. Это стало возможным благодаря объединению сведений из электронных медицинских карт, систем ЦИСИЗ Роспотребнадзора и базы данных VGARus в режиме реального времени.

Описанные нововведения информационного обеспечения и вирусологического мониторинга, в свою очередь, совершенствуют диагностическую подсистему, которая является второй важнейшей частью системы В.Д. Белякова. Диагностическая подсистема анализирует в совокупности результаты всех данных информационной подсистемы, что в том числе позволяет оценить молекулярно-генетические механизмы развития эпидемического процесса. Основной функцией диагностической подсистемы является постановка эпидемиологического диагноза. Под диагнозом здесь имеется в виду распознавание закономерностей, скрытых механизмов и движущих сил развития эпидемического процесса. Постановка эпидемиологического диагноза предполагает дифференцированную оценку групп, территории и времени риска. Если традиционная эпидемиология, базируясь на учении Л.В. Громашевского о механизме передачи, оценивала эти параметры преимущественно на популяционном уровне, то внедрение молекулярно-биологических методов позволяет расширить диагностические возможности классической триады.

Группы риска определяют, какие социально-возрастные и профессиональные группы населения наиболее уязвимы для инфекции в настоящее время. Помимо детей, в эпидемический процесс сейчас все активнее вовлекаются неиммунные взрослые, студенты вузов и военнослужащие. Молекулярно-генетический мониторинг в этих когортах позволяет установить генотипическую принадлежность циркулирующих штаммов у привитых и разграничить случаи прорыва поствакцинального иммунитета, инфицирования гетерологичными вариантами вируса и заболевания непривитых лиц. При этом неэффективность вакцинации может быть обусловлена двумя разными механизмами. Это может быть первичная вакцинальная неудача, проявляющаяся отсутствием сероконверсии из-за индивидуальных особенностей организма, нарушений

техники введения вакцинного препарата или нарушений «холодовой цепи». Вторичные вакцинальные неудачи связаны с постепенным угасанием защиты со временем. В условиях массовой иммунизации и снижения бустерного эффекта из-за низкой циркуляции дикого вируса в популяции происходит ослабление напряженности поствакцинального иммунитета. Хотя эпидемическому паротиту свойственны бессимптомные и инаппарантные формы, сочетание неполного охвата прививками взрослых и угасания иммунитета у ранее вакцинированных может формировать скрытый резервуар инфекции именно в этих группах населения.

К территориям риска относят регионы, где в силу социальных, миграционных и демографических факторов формируются стойкие очаги и поддерживается высокая интенсивность циркуляции возбудителя. В Российской Федерации к таким эндемичным территориям относится Северо-Кавказский федеральный округ (прежде всего Республика Дагестан), где регистрируется основная доля случаев эпидемического паротита. Использование результатов молекулярно-генетического мониторинга при эпидрасследовании помогает установить связь между изолированными на первый взгляд случаями болезни. Это позволяет точно определить границы очагов и отделить локальную передачу инфекции от завозных случаев.

Время риска отражает сезонные и многолетние циклы подъема заболеваемости. Оценить вероятность новых вспышек (как из-за накопления восприимчивых лиц, так и вследствие смены преобладающих геновариантов возбудителя) можно с помощью ретроспективного анализа заболеваемости в связке с изучением генетической изменчивости вируса. Итоговым этапом эпидемиологического диагноза служит оценка скорости и направленности эволюции возбудителя, что дает возможность заранее скорректировать профилактические и противоэпидемические мероприятия.

Совершенствование информационной и диагностической подсистем эпидемиологического надзора (включая его прогностический блок) усиливает управленческую составляющую в классической структуре В.Д. Белякова. Опора на

молекулярно-генетические данные позволяет специалистам перейти от реагирования на манифестные вспышки к упреждающему планированию противоэпидемических мер. Непрерывный мониторинг повышает точность управленческих решений от организации работы в очагах до пересмотра тактики вакцинопрофилактики и оценки эффективности самой системы надзора.

Методы амплификации нуклеиновых кислот ускоряют этиологическую расшифровку диагноза. Они позволяют изолировать пациентов со стертой клинической картиной уже в первые дни болезни, что прерывает цепочки передачи возбудителя и снижает риск вспышек. Когда в популяции начинает преобладать генотип, заметно отличающийся от вакцинного штамма, поиск мутаций в генах поверхностных белков помогает оценить вероятность «ускользания» вируса от иммунного ответа. На основе этих данных принимаются решения о подчищающей иммунизации или обновлении штаммового состава вакцин.

Регулярный контроль своевременности расследования очагов, полноты лабораторного обследования и охвата генотипированием выявляет недостатки в работе противоэпидемической службы. По его результатам пересматриваются алгоритмы диагностики, логистика биоматериала и протоколы биоинформатического анализа. В результате управленческая подсистема начинает работать на опережение, а противоэпидемические меры принимаются быстрее. Такой подход повышает результативность эпидемиологического надзора в целом, стабилизирует эпидемический процесс и сокращает социально-экономический ущерб от эпидемического паротита в масштабах страны.

***

В Главе 7 обоснованы направления совершенствования эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом за счет внедрения молекулярно-биологических методов в его информационную и диагностическую подсистемы. Амплификация нуклеиновых кислот и секвенирование дополняют последнюю объективными данными о циркуляции возбудителя, которые нельзя получить при рутинном наблюдении. Эти сведения позволяют точнее выделить

группы, территории и время риска, вовремя распознавать завозные случаи и прослеживать эволюцию вируса в условиях массовой вакцинации. Без систематизации такой информации невозможно принимать обоснованные управленческие решения и оперативно корректировать противоэпидемические мероприятия.

По итогам анализа действующих нормативов (СанПиН 3.3686-21 и МУ 3.1.2.4075-24) и филогенетического изучения штаммов вируса, циркулирующих в Российской Федерации, сформулированы практические рекомендации для органов здравоохранения.

1. Изменить регламент верификации диагноза в действующих санитарно-эпидемиологических правилах: лабораторное подтверждение эпидемического паротита следует перевести из рекомендательных в статус обязательных при каждом подозрении на инфекцию (по аналогии с действующими протоколами эпидемиологического надзора за корью и краснухой).

2. Организовать плановый молекулярно-генетический мониторинг возбудителя во всех субъектах Российской Федерации, чтобы выйти на целевой показатель качества надзора (генотипирование не менее 80% выявленных цепочек передачи вируса).

3. Оптимизировать вертикаль надзора на основе единых протоколов секвенирования и биоинформатического анализа. Первичное тестирование методом ПЦР должно проводиться на базе региональных Центров гигиены и эпидемиологии, а секвенирование положительных образцов и филогенетический анализ предлагается сосредоточить на уровне Референс-центра и профильных научно-исследовательских организаций.

4. Закрепить обязательное депонирование расшифрованных нуклеотидных последовательностей в национальную базу данных VGARus для системного отслеживания генетического разнообразия и эволюции штаммов, циркулирующих в стране.

Реализация этих мер приблизит отечественную систему эпидемиологического надзора к критериям ВОЗ и создаст надежную

информационную базу для управления эпидемическим процессом. В дальнейшем на этой основе можно будет разработать обновленные индикаторы качества как для самого надзора, так и для оценки эффективности противоэпидемических мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекция, вызванная вирусом эпидемического паротита, и по сей день остается актуальной и социально значимой. Это обусловлено, главным образом, взаимосвязанными эпидемиологическими, иммунологическими и клинико-социальными факторами. Во многом благодаря массовой иммунизации удалось достичь больших успехов в снижении заболеваемости эпидемическим паротитом, но, несмотря на все эти достижения, скрытая циркуляция вируса и риск возникновения локальных вспышек, все еще представляют серьезную угрозу для санитарно-эпидемиологического благополучия.

Выполненное диссертационное исследование посвящено научному обоснованию, разработке и внедрению новых подходов к совершенствованию эпидемиологического надзора за паротитной инфекцией, на основе молекулярно-биологических методов.

Текущая эпидемиологическая ситуация была охарактеризована на основе подробного анализа состояния специфического иммунитета населения, что позволило выявить серьезные дефекты плановой вакцинации, которые в дальнейшем послужили причиной увеличения интенсивности эпидемического процесса. Так, охват своевременной ревакцинацией шестилетних детей в целом по стране снизился и составил 71,27% и 92,33% в 2023 и 2024 годах соответственно. При этом несколько неблагополучных регионов, таких как Курская, Челябинская, Оренбургская, Орловская области и Республика Карелия не смогли охватить прививками даже 70% детей. Накопление неиммунного населения закономерно обусловило то, что в общей структуре заболевших доминировали непривитые лица. составив 78%. Это стало одной из причин возникновения вспышек инфекции в перечисленных регионах.

Изменение структуры заболеваемости, детально описанное в главах диссертационного исследования, произошло также вследствие нарушений в организации и проведении плановой вакцинации. Нами было показано, что в межэпидемические периоды заболеваемость смещалась в сторону старших

возрастных групп, при этом доля взрослого населения увеличивалась до 49,92%, а в структуре детской заболеваемости к 2024 году был отмечен выраженный сдвиг в сторону младшей группы детей 3-6 лет, доля которых составила 35,05% от общего числа заболевших детей.

В распределении заболевших по месту жительства преобладали городские жители, их доля составила 73,33%. Однако динамика заболеваемости взрослых лиц среди городского и сельского населения не имела достоверных статистических различий, что свидетельствует о равнозначной интенсивности социальных контактов городских и сельских жителей.

Установленная нами высокая доля взрослого населения в общей структуре заболевших требует пересмотра сложившихся представлений о клиническом течении паротитной инфекции. В классических руководствах по инфекционным болезням и в более ранних работах Г.А. Харченко [41, 42] эпидемический паротит рассматривался чаще всего как детская инфекция со сравнительно благоприятным прогнозом, однако полученные нами данные о манифестации заболевания у взрослых показывают высокую частоту развития тяжелых системных осложнений. Это согласуется с наблюдениями Д. О. Иванова и соавт. [13], которые подробно описали риски возникновения орхитов и эпидидимитов у подростков и молодых мужчин. Данный факт в долгосрочной перспективе требует повышенного внимания к вопросам репродуктивного здоровья мужчин.

При этом проблема влияния паротитной инфекции на репродуктивную систему женщин, например, риски развития маститов, оофоритов и их отдаленных последствий для фертильности, на сегодняшний день остается крайне малоизученной и нуждается в углубленных исследованиях. Тенденция к увеличению доли среднетяжелых форм эпидемического паротита у взрослых отмечается и в работах зарубежных исследователей. Например, R. Agarwal [47] и A. Ahizoune [49] связывают рост госпитализаций при данной инфекции с возникновением атипичных форм и таких неврологических поражений, как менингиты и энцефалиты.

Проблема дифференциальной диагностики сиалоаденитов в работах отечественных инфекционистов вызывает особый интерес. По словам М.З. Шахмарданова и соавт. [44], в практике амбулаторного звена участились случаи сочетанной патологии. Выводы М.А. Ниналалова [26] о клинических особенностях протекания сочетанной инфекции кори и эпидемического паротита согласуются с полученными нами данными. Коинфекция часто характеризуется взаимным отягощением симптоматики. Кроме того, это может приводить к диагностическим ошибкам при использовании только рутинных осмотров. Как справедливо отмечают в своей работе В.В. Афанасьев и соавт. [2], поражения околоушных слюнных желез могут иметь иную этиологию. Например, иметь бактериальную природу или ассоциироваться с другими респираторными вирусами. Этот факт подтверждается также работами зарубежными авторов, таких как F. Centrone [57] и S. Spampinato [138]. Совокупность клинико-диагностических проблем не позволяет опираться на прежнюю систему эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом. Каждый подозрительный случай нуждается в лабораторном подтверждении.

Ретроспективный анализ уровня заболеваемости подтверждает известные закономерности развития эпидемического процесса, выражающиеся в сохранении его волнообразного характера со среднемноголетним показателем 0,97 на 100 тыс. населения и глубокой территориальной неравномерности распределения инфекции по субъектам Российской Федерации. Нами была подтверждена многолетняя цикличность паротитной инфекции с выраженными эпидемическими пиками в 2017 г. и 2024 г., при этом продолжительность межэпидемического периода составила 7 лет. Доказано, что резкое снижение заболеваемости в 2020-2022 годах носило временный характер и было обусловлено внешним сочетанным воздействием неспецифических противоэпидемических ограничений в период пандемии COVID-19, после отмены которых эпидемический процесс закономерно вернулся к исходным циклическим параметрам.

На основании пространственного анализа распределения инфекции впервые статистически обоснован статус территории максимального эпидемиологического

риска в Северо-Кавказском федеральном округе (превышение среднероссийского уровня в 12,25 раза, p <0,001) и, в частности, в Республике Дагестан (СМП – 29,97). Установлено, что на долю данной территории риска пришлось 44,12% всех групповых очагов страны при региональном уровне очаговости, превышающем общероссийские тенденции в 21 раз (p <0,001), в то время как в целом по стране 99,76% очагов ограничивались одним случаем со средним индексом очаговости 1,02. Полученные данные свидетельствуют об изменении характера проявлений эпидемического паротита в современных условиях с формированием скрытого резервуара инфекции, поддерживаемого преимущественно за счет лиц с субклиническим (инаппарантным) течением. Традиционная лабораторная серологическая диагностика в этих условиях демонстрирует серьезные ограничения, оказываясь неэффективной у ранее вакцинированных лиц из-за невозможности дифференцировать поствакцинальные и постинфекционные антитела [5, 18].

Ответом на выявленные скрытые риски активизации эпидемического процесса стала разработка, валидация и апробация комплекса методик, предназначенных для качественного определения РНК вируса эпидемического паротита. Разработанные методики обладают высокими аналитическими и диагностическими характеристиками. Методика на основе ОТ-ПЦР-РВ послужила фундаментом для разработки набора реагентов «AmpliSens® *Mumps virus*» в жидкой и лиофилизированной формах комплектации по ТУ 20.59.52-490-01897593-2025, который после успешного прохождения верификационных технических и клинических испытаний допущен к медицинскому обращению в Российской Федерации в установленном регуляторными органами порядке (регистрационный номер медицинского изделия ЕРУЛ-Г004-00110-00/03870061 от 02.12.2025 г.), и на сегодняшний день полноценно внедрен производственный цикл ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Набор реагентов снабжен специализированным ПО AmpliSens® Mumps virus Soft для автоматической интерпретации результатов (госрегистрация от 26.02.2026 г.). На авторские олигонуклеотиды, используемые в экспресс-методике на основе петлевой

изотермической амплификации (OT-LAMP) получен патент № 2850880 от 15.09.2025 г. Внедрение данных диагностических платформ позволило ускорить выявление возбудителя на всех этапах лабораторного исследования, минимизировать риски ошибок при интерпретации результатов, а также обеспечить технологическую независимость и стабильность отечественной системы эпидемиологического надзора.

Логическим продолжением работы стало совершенствование молекулярно-генетического типирования. Согласно существующим рекомендациям ВОЗ, стандартом генотипирования является анализ короткого локуса гена, кодирующего малый гидрофобный белок (*SH*) [110]. Однако нами доказано, что в условиях глобального доминирования генотипа G разрешающая способность классического *SH*-подхода недостаточна для дифференциации завозных случаев от эндемичной циркуляции. Для преодоления этой проблемы впервые разработан и обоснован новый методический подход, основанный на мультилокусном секвенировании по методу Сэнгера, включающий три быстро эволюционирующие некодирующие области генома (*NP-NCR, PM-NCR, MF-NCR*) и кодирующую последовательность поверхностного антигена (ген *HN*). Подана заявка на изобретение № 2025135279 от 11 декабря 2025 г. «Способ секвенирования геномных некодирующих областей вируса эпидемического паротита и набор синтетических олигонуклеотидов для его реализации».

Применение обновленного мультилокусного подхода обеспечило более высокий уровень филогенетического разрешения и позволило раскрыть эпидемиологическое значение выявленных генетических связей. Было четко дифференцировано внутри доминирующего генотипа G существование двух независимых обособленных геногрупп: G1 (ассоциированной с международной референс-линией MuVi/Sheffield.GBR/1.05) и G2 (ассоциированной с референс-линией MuVi/Gloucester.GBR/32.96), что позволило доказать множественный характер и независимость путей завоза вируса на территорию РФ. Создана База данных геномов штаммов *Mumps orthorubulavirus,* функционирующая в составе специализированного модуля VGARus (Virus Genome Aggregator of Russia)», в

которую в рамках настоящего исследования была депонирована 91 нуклеотидная последовательность. Правовой статус продукта подтвержден официальным свидетельством о государственной регистрации базы данных № 2026623191, выданным Роспатентом от 10 июля 2026 г.

В отечественной литературе традиционно рассматривалась концепция высокой стабильности антигенных свойств вируса эпидемического паротита. Однако, зафиксированные в ходе исследования мутации согласуются с результатами Т.С. Рубальской и соавт. [33], а также И.Э. Мизаевой [19], указывавших на постепенное накопление генетических изменений в циркулирующих на территории Российской Федерации вариантах возбудителя. Данное явление носит глобальный характер и активно обсуждается в мировой науке. Так, полученные нами данные сопоставимы с экспериментальными результатами K. Briggs и соавт. [55], продемонстрировавших на модельных животных снижение нейтрализующей способности сывороток к классическому вакцинному штамму *Jeryl Lynn* (генотип А) по отношению к современным изолятам генотипа G. Изменения конформации поверхностных белков (в частности, белка HN), описанные в структурных исследованиях R.E. Forgione [69] и J. R. Frost [71], могут обусловливать эффективное связывание вируса с сиалогликановыми рецепторами клеток организма человека на фоне сниженных титров специфических антител. Таким образом, наблюдаемый подъем заболеваемости может быть следствием сочетанного влияния угасания поствакцинального иммунитета со временем и параллельного изменения антигенной структуры циркулирующих вариантов вируса. Это подтверждает выводы H. Won [150] и S. Yeon Kim [152] о целесообразности молекулярно-генетического мониторинга для последующей оценки вакцинных кандидатов на основе актуальных генотипов возбудителя

Полученные в ходе настоящего диссертационного исследования результаты позволяют провести глубокий сравнительный анализ современных проявлений эпидемического процесса паротитной инфекции с классическими и современными данными, представленными в отечественной и зарубежной научной литературе.

Это необходимо для верификации установленных нами закономерностей и выявления новых фундаментальных аспектов эволюции возбудителя в условиях массовой вакцинопрофилактики.

Результаты диссертационного исследования наглядно иллюстрируют причины, по которым не был реализован прогноз В.М. Болотовского [5], а также И.Н. Лыткиной [18], предполагавших в начале 2000-х годов достижение полной элиминации эпидемического паротита в среднесрочной перспективе. Данная научная гипотеза базировалась на обязательном условии сохранения стабильно высокого охвата населения двумя дозами вакцины (не менее 95%), что и обеспечивало эпидемическое благополучие в стране вплоть до 2015 года. Существенным фактором успешного достижения этих параметров на рубеже веков послужила смена тактики вакцинопрофилактики с переходом от монопрепаратов к активному использованию ассоциированных вакцин (комбинированной дивакцины «корь-паротит» и трехкомпонентных препаратов MMR). Это позволило синхронизировать графики иммунизации и существенно повысить приверженность населения к вакцинации. Однако, внедрение новых комбинированных вакцин потребовало проведения дополнительных исследований их иммунологической эффективности и отработки оптимального соотношения антигенов в препарате (ввиду возможной антигенной интерференции компонентов), что не могло не отразиться на эпидемиологической эффективности иммунизации против эпидемического паротита в начале XXI века. Кроме того, на современном этапе реальный своевременный охват ревакцинацией шестилетних детей в отдельных субъектах Российской Федерации опустился ниже критической отметки в 70%. Таким образом, невыполнение базового условия элиминации привело к интенсификации эпидемического процесса и полностью подтвердило тезисы В.В. Семерикова и соавт. [36] о наличии системных рисков возврата вакциноуправляемых инфекций при снижении настороженности первичного звена здравоохранения.

Особый теоретический интерес представляет феномен «возвращения» эпидемического процесса к исходным циклическим параметрам после отмены

неспецифических противоэпидемических ограничений периода пандемии COVID-19 (2020-2022 гг.). В этот период наблюдалось снижение заболеваемости, обусловленное жестким разобщением населения. Аналогичные процессы временного подавления циркуляции респираторных патогенов с последующим резким компенсаторным ростом описывают и зарубежные авторы, в частности R. Agrawal и соавт. [48], а также эксперты Всемирной организации здравоохранения [111, 146]. Наши результаты показали, что пандемия COVID-19 лишь временно замаскировала истинную интенсивность трансмиссии вируса, но не прервала ход эпидемического процесса, который после восстановления социальных контактов реализовался в виде масштабного эпидемического подъема в 2024 году.

Важным результатом диссертационной работы стало обоснование статуса Северо-Кавказского федерального округа и, в частности, Республики Дагестан как территории максимального эпидемиологического риска (превышение среднемноголетнего общероссийского уровня в 12,25 раза). Полученные нами данные о том, что на долю Республики Дагестан пришлось 44,12% всех групповых очагов страны, а региональный уровень очаговости превысил общероссийский в 21 раз, подтверждают и существенно расширяют локальные наблюдения З.Г. Тагировой и соавт. [38]. Однако, если в указанной работе авторы ограничивались констатацией высокого уровня заболеваемости в Дагестане, связывая его преимущественно с традиционно высокой плотностью проживания многодетных семей, то в нашем исследовании с привлечением молекулярно-генетических методов впервые доказано, что в СКФО сформировалась непрерывная эндемичная трансмиссия дикого вируса. Это переводит понятие «очаговости» для эпидемического паротита в плоскость социально-демографических детерминант (низкий уровень своевременного охвата вакцинацией, миграционные потоки, высокая частота отказов от прививок по религиозным и иным убеждениям). Характер распределения очагов в СКФО резко контрастирует с ситуацией в остальной части Российской Федерации, где, по нашим данным, 99,76% очагов ограничивались одним случаем со средним

индексом очаговости 1,02. Это свидетельствует о достаточном уровне напряженности популяционного иммунитета в большинстве субъектов РФ, что согласуется с данными Я.В. Симаковой и соавт. [37] об устойчивости иммунной прослойки на благополучных территориях.

Наши выводы о причинах изменения возрастной структуры заболеваемости позволяют дополнить представления, изложенные в работе J.A. Lewnard и Y.H. Grad, выполненной на основе анализа вспышек в США. Американские исследователи связывают активизацию эпидемического процесса среди молодежи и лиц зрелого возраста преимущественно с постепенной потерей поствакцинального иммунитета со временем. Важно отметить, что анализируемые в США когорты заболевших формировались в условиях соблюдения двукратной плановой вакцинации, рекомендованной в этой стране с 1989 года [97]. В отличие от ситуации в США, проведенный нами анализ указывает на сочетанный характер развития этого процесса в Российской Федерации. В отечественных реалиях естественная динамика популяционного иммунитета во времени накладывается на исторические особенности вакцинального анамнеза (когда часть современного взрослого населения в силу графиков иммунизации прошлых лет получила в детстве только одну дозу вакцины), а также на современные дефекты организации плановой ревакцинации детского населения на отдельных территориях.

Установленное нами выраженное снижение своевременного охвата ревакцинацией шестилетних детей в ряде субъектов (менее 70%) подтверждает долгосрочный характер эпидемиологических рисков, детально описанных в работе И. В. Михеевой [20] за многолетний период (1995-2016 гг.). Данное сочетанное действие факторов – недостаточной иммунологической эффективности живой паротитной вакцины (на уровне 80-85%), угасания поствакцинального иммунитета и дефектов организации иммунизации на местах – приводит к изменению возрастной структуры заболеваемости с увеличением доли взрослого населения до 49,92% в межэпидемические периоды и формированию скрытого резервуара инфекции, поддерживаемого за счет лиц со стертым и инаппарантным течением. Установленные в ходе исследования закономерности скрытой циркуляции

геновариантов вируса отражают адаптационную перестройку популяции патогена в ответ на направленное селективное давление поствакцинального иммунитета, что подтверждает классические положения Л.В. Громашевского и Б.Л. Черкасского о ведущей роли социального фактора в развитии эпидемического процесса и согласуется с выводами, полученными в работах C. Galvan и соавт. [74], а также С.А. Румбешт и А.Я. Миндлиной [34].

Применение разработанного комплекса диагностических платформ снимает ограничения традиционных методов серодиагностики у ранее привитых лиц, подробно описанные зарубежными исследователями, в связи с чем предложенный нами метод мультилокусного секвенирования обеспечил получение более подробных результатов филогенетического анализа. Благодаря этому удалось разграничить независимые геновариенты вируса, что еще раз подтверждает данные A.M. Gavilan и соавт. [76] о необходимости расширенного секвенирования для понимания особенностей циркуляции возбудителя и эпидемических связей при завозных и местных случаях.

Особое фундаментальное значение имеет выполненное сопоставление полученных последовательностей актуальных российских изолятов с отечественным вакцинным штаммом *Leningrad*-3. Эти области генома ранее описали S. Gouma и соавт. [78], сопоставив вакцинный штамм *Jeryl Lynn* с вариантами генотипа G, циркулировавшими в Европе до 2015 года. Нами впервые в Российской Федерации на молекулярном уровне выявлены признаки антигенной дивергенции возбудителя. В ходе анализа выявлены несинонимичные аминокислотные замены в ключевых В-клеточных эпитопах белка HN (области 327-363 и 375-403). Эти мутации могут индуцировать изменения конформации антигенных детерминант вируса, что можно рассматривать как структурные предпосылки к снижению вируснейтрализующей активности специфических антител у привитых лиц. В свою очередь, это помогает объяснить причину возникновения случаев заболевания среди вакцинированных.

Выявление в трансмембранном домене белка SH у образцов генотипа G специфических аминокислотных замен L13V, I16V и M22I требует отдельного

рассмотрения, поскольку данные мутации могут использоваться в качестве молекулярных маркеров микроэволюции патогена. Полученные нами результаты дополняют выводы S. Gouma и соавт. [78] о структурных различиях между дикими и вакцинными штаммами, а также обосновывают необходимость непрерывного молекулярно-генетического мониторинга для долгосрочного прогнозирования эффективности иммунопрофилактики.

Предложенные нами направления совершенствования эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, основаны на модернизации трех его классических подсистем (информационной, диагностической и управленческой), а также на развитии прогностической подсистемы. Кроме того, они позволяют адаптировать методологию классического эпидемиологического анализа к современным молекулярно-биологическим технологиям.

Информационная подсистема была дополнена алгоритмом молекулярно-генетического типирования, а также обязательным внедрением полученных данных в систему мониторинга на федеральном уровне. Использование созданной нами Базы данных геномов вируса в составе модуля VGARus (свидетельство Роспатента № 2026623191 от 10 июля 2026 г.) обеспечивает оперативную загрузку нуклеотидных последовательностей, что позволяет перейти от простого количественного учета заболевших к подробной генетической характеристике очагов. С помощью своевременного отслеживания межрегионального распространения возбудителя решаются задачи геномного эпидемиологического надзора.

Совершенствование диагностической подсистемы стало возможно за счет внедрения ускоренной молекулярной диагностики, которая обеспечивает быструю этиологическую расшифровку случаев заболевания благодаря использованию разработанных наборов для тестирования образцов методами ПЦР и петлевой изотермической амплификации. Предложенный нами алгоритм секвенирования и филогенетического анализа позволяет отслеживать генетическую эволюцию возбудителя, а также определять реальные границы эпидемических

очагов и дифференцировать завозные случаи инфекции от местной циркуляции вируса.

На комплексной оценке данных эпидемиологического, серологического и молекулярно-генетического мониторингов основана прогностическая подсистема. Сопоставление динамики заболеваемости с показателями популяционного иммунитета, а также определение скорости распространения актуальных генотипов вируса, включая оценку их антигенного соответствия вакцинным штаммам, позволит в будущем моделировать траектории развития эпидемического процесса и заранее выявлять территории и группы риска возникновения вспышек.

Управленческая подсистема на основе полученных данных о генотипе возбудителя, например преобладании генотипа G, скорости его распространения и уровне антигенного соответствия используемым вакцинным штаммам преобразуется в инструмент упреждающего планирования. Это позволяет органам Роспотребнадзора перейти к точечным противоэпидемическим мероприятиям непосредственно в границах выявленных очагов. Практическая реализация этого подхода включает проведение подчищающей иммунизации в конкретных группах риска, регламентацию обязательного молекулярного типирования возбудителя (не менее 80% зарегистрированных вспышек) и внедрение системы стандартизированных индикаторов качества эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом, унифицированных с критериями, регламентированными для кори и краснухи в действующих методических указаниях МУ 3.1.2.4075-24 (включая показатели своевременности расследования, полноты лабораторного подтверждения, охвата генотипированием очагов и чувствительности активного надзора), что в конечном итоге обеспечивает существенное снижение социально-экономического бремени эпидемического паротита в Российской Федерации.

Систематизация профильных сведений повышает целостность молекулярно-генетического мониторинга популяции возбудителя, что согласуется с теоретическими представлениями И.В. Михеевой и соавт. [22] об общих

направлениях цифровизации надзорных систем. Накопление и обобщение данных на уровне уполномоченных учреждений Роспотребнадзора позволяют на основе точного прогноза оперативно принимать конкретные управленческие решения, повышая общую эффективность контроля за инфекцией.

На основе разработанных направлений совершенствования структуры эпидемиологического надзора сформулированы предложения по внесению изменений в главу XXXV действующих санитарных правил и норм (СанПиН 3.3686-21) по профилактике инфекционных заболеваний (в части регламентации молекулярно-генетических методов диагностики и надзора за эпидемическим паротитом).

ВЫВОДЫ

1. Ретроспективный анализ заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации за период 2015–2024 гг. позволил установить волнообразный характер эпидемического процесса со среднемноголетним показателем 0,97 на 100 тыс. населения и подтвердить наличие многолетней цикличности с выраженными эпидемическими пиками в 2017 г. и 2024 г. (продолжительность межэпидемического периода составила 7 лет). Снижение показателей заболеваемости в 2020–2022 гг. носило временный характер и было обусловлено противоэпидемическими ограничениями в период пандемии COVID-19, после отмены которых эпидемический процесс закономерно вернулся к исходным параметрам.

На основании пространственного анализа распределения эпидемического паротита доказана выраженная территориальная неравномерность интенсивности проявлений эпидемического процесса и определена территория максимального эпидемиологического риска, локализованная в Северо-Кавказском федеральном округе (превышение среднероссийского уровня в 12,25 раза, p <0,001) и, в частности, в Республике Дагестан (СМП – 29,97). Установлено, что на долю данной территории риска пришлось 44,12% всех групповых очагов страны при региональном уровне очаговости, превышающем общероссийский в 21 раз (p <0,001). Выявленные особенности развития локального эпидемического процесса на фоне общероссийских тенденций (где 99,76% очагов ограничивались одним случаем со средним индексом очаговости 1,02) статистически аргументируют необходимость дифференцированного подхода к организации эпидемиологического надзора и приоритетного внедрения тотального молекулярно-генетического мониторинга в границах установленных территорий риска.

2. Молекулярно-генетический мониторинг, циркулирующих в период 2024-2026 гг. вариантов возбудителя, выявил преобладание на территории Российской Федерации генотипа G (более 85%), штаммы которого из 15 регионов

сформировали единый кластер, подтверждая синхронизацию эпидемического процесса. Выявлены случаи заболевания, вызванные вирусом генотипов J (в Республике Дагестан, генетически близких к штаммам из Швеции) и C (характерных для Индии), классифицированных как спорадические импортированные заносы. Значительное генетическое расстояние (17–18%) между дикими изолятами и вакцинным штаммом *Leningrad-3* доказывает высокую надежность молекулярного маркирования локуса *SH* для дифференциации истинного заболевания от поствакцинальных осложнений. Вместе с тем, в трансмембранном домене белка SH генотипа G обнаружены специфические аминокислотные замены L13V, I16V и M22I, выступающие маркерами микроэволюции патогена.

3. Разработаны и внедрены в практику высокочувствительные отечественные тест-системы: набор реагентов на основе ОТ-ПЦР-РВ «AmpliSens® *Mumps virus*» в жидкой и лиофилизированной формах комплектации, снабженный специализированным ПО для автоматической интерпретации результатов (госрегистрация от 26.02.2026 г.), а также высокоскоростная скрининговая методика на основе петлевой изотермической амплификации. Внедрение разработанных диагностических платформ позволит ускорить выявление возбудителя на всех этапах лабораторного исследования и минимизировать риски ошибок при интерпретации результатов.

4. Разработана и обоснована методика мультилокусного секвенирования по Сэнгеру, в которой стандартный локус *SH* дополнен изучением трех быстро эволюционирующих некодирующих областей (*NP-NCR, PM-NCR* и *MF-NCR*). Такой подход повысил филогенетическое разрешение внутри генотипа G и позволил уверенно разграничивать местную циркуляцию вируса и завозные случаи. Сравнение актуальных российских изолятов с вакцинным штаммом *Leningrad*-3 выявило несинонимичные замены в В-клеточных эпитопах белка *HN* (участки 327-363 и 375-403), что указывает на антигенную дивергенцию возбудителя. Применение предложенного протокола расширяет аналитические возможности эпиднадзора при расследовании путей распространения инфекции. В

свою очередь, данные об антигенных изменениях белка *HN* сигнализируют о потенциальном снижении эффективности поствакцинального иммунитета и требуют постоянного мониторинга эволюции вируса для своевременного пересмотра тактики вакцинации.

5. Обоснованы направления совершенствования эпидемиологического надзора за эпидемическим паротитом. В рамках предложенной модели разрозненные исследования уступают место плановому молекулярно-генетическому мониторингу, включающему обязательное генотипирование возбудителя, объединение биоинформатических данных в единую систему и загрузку нуклеотидных последовательностей на платформу VGARus. Это ускоряет этиологическую расшифровку диагноза и помогает вовремя выявить инаппарантные формы инфекции среди контактных лиц. Использование молекулярно-биологических методов позволяет точно устанавливать эпидемиологические связи, очерчивать реальные границы очагов и документировать завоз новых геновариантов. Кроме того, непрерывный генетический анализ служит инструментом для оценки антигенного соответствия циркулирующих штаммов применяемым вакцинам и прогнозирования эффективности иммунопрофилактики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для оптимизации эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита, органам исполнительной власти в области охраны здоровья граждан и территориальным органам Роспотребнадзора рекомендовано обеспечить достижение регламентируемого охвата населения (не менее 95%) своевременной вакцинацией в 12 месяцев и ревакцинацией в 6 лет, уделив особое внимание регионам Северо-Кавказского федерального округа и областям с критически низкими показателями иммунизации. Необходимо внедрить систему персонифицированного учета для сплошного аудита прививочных карт в образовательных организациях с целью выявления необоснованных медицинских отводов, а также перевести противоэпидемические мероприятия в очагах в активный формат путем временной изоляции контактных лиц без документального подтверждения иммунитета.

Лабораторным центрам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации следует внедрить в работу набор реагентов на основе ОТ-ПЦР-РВ «AmpliSens® *Mumps virus*». При возникновении групповых очагов необходимо организовать тестирование контактных лиц независимо от наличия симптомов для раннего выявления и изоляции бессимптомных источников и пациентов со стертыми формами, а в отдаленных регионах и мобильных лабораториях применять лиофилизированную форму тест-систем для нивелирования рисков нарушения «холодовой цепи».

Референс-центру по мониторингу за инфекцией рекомендовано модернизировать регламент этиологической расшифровки и при обнаружении новых генотипов и геновариантов перейти от рутинного анализа локуса *SH* к предложенному методу мультилокусного секвенирования по Сэнгеру, включающему три быстро эволюционирующие некодирующие области (*NP-NCR, PM-NCR, MF-NCR*) в сочетании с геном *HN*. Высокое филогенетическое разрешение данной методики необходимо использовать для четкой дифференциации местных цепочек передачи от импортированных заносов, а также

для скрининга гена *HN* циркулирующих изолятов с целью своевременного обнаружения мутаций и оценки рисков ускользания вируса от иммунитета, индуцированного вакцинным штаммом *Leningrad-3*.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Сформулированные в ходе работы выводы указывают на целесообразность долгосрочного использования потенциала молекулярно-биологических методов с целью оптимизации системы эпидемиологического надзора за инфекцией, вызванной вирусом эпидемического паротита.

В научно-технологическом аспекте важным направлением для продолжения работы является переход от секвенирования по Сэнгеру к полногеномному секвенированию на платформах NGS для создания национальной базы полных геномов, а также разработка мультиплексных ПЦР-тест-систем для одновременного выявления наиболее часто встречающихся возбудителей эпидемического паротита не паротитновирусной этиологии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CDC – Centers for Disease Control and Prevention (Центры по контролю и предотвращению заболеваний, США)

LAMP – Loop-mediated isothermal amplification (метод петлевой изотермической амплификации)

MMR – комбинированный вакцинный препарат для одновременной профилактики коревой инфекции, эпидемического паротита и краснухи

NCBI – National Center for Biotechnology Information (Американский национальный центр биотехнологической информации)

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДИ – расчетный доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – метод иммуноферментного анализа

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

МР – методические рекомендации

МУ – методические указания

ОР – критерий относительного риска

ОТ-ИТ – метод изотермической амплификации, совмещенный с обратной транскрипцией

ОТ-ПЦР – вариант полимеразной цепной реакции с этапом обратной транскрипции

ОТ-ПЦР-РВ – ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени

РНК – рибонуклеиновая кислота

РУ – регистрационное удостоверение

СМП – среднемноголетний показатель заболеваемости

США – Соединенные Штаты Америки

ТУ – технические условия

ФО – Федеральный округ

ЭВМ – электронная вычислительная машина

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимкин, В.Г. Биотехнологии в геномном эпиднадзоре. Состояние и перспективы развития / В.Г. Акимкин, А.С. Черкашина, А.И. Тюменцев [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2025. – № 24(3). – С. 4-13. – DOI:10.31631/2073-3046-2025-24-3-4-13.

2. Афанасьев, В.В. Двусторонний острый гнойный паротит у больных с COVID-19 / В.В. Афанасьев, М.Р. Абдусаламов, З. Картоев // Стоматология. – 2022. – № 101(1). – С. 70–72. – DOI:10.17116/stomat202210101170.

3. Беляков, В.Д. Общие закономерности функционирования паразитарных систем (механизмы саморегуляции) / В. Д. Беляков // Паразитология. – 1986. – № 4. – С. 249-255.

4. Беляков, В.Д. Избранные лекции по общей эпидемиологии инфекционных и неинфекционных заболеваний / В. Д. Беляков. – Москва: «Медицина», 1995. – 176 с.

5. Болотовский, В.М. Корь, краснуха, эпидемический паротит: единая система управления эпидемическими процессами / В.М. Болотовский, И.В. Михеева, И.Н. Лыткина [и др.]. – Москва, 2004. – 224 с.

6. Брико, Н.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней Т.1 / Н.И. Брико, Г.Г. Онищенко, В.И. Покровский. – Москва: «Медицинское информационное агентство», 2019. – 880 с.

7. Глобальная стратегия геномного эпиднадзора за возбудителями болезней, обладающих пандемическим и эпидемическим потенциалом, 2022-2032 гг. – Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2022. – 32 с. –ISBN 978-92-4-004697-9.

8. Громашевский, Л.В. Общая эпидемиология: руководство для врачей и студентов санитарно-гигиенических факультетов / Л.В. Громашевский. – 4-е изд. – Москва: Медицина, 1965. – 290 с.

9. Ермолович, М.А. Эпидемический паротит в Республике Беларусь: значимость лабораторной верификации диагноза / М.А. Ермолович,

Е.О. Самойлович, Г.В. Семейко [и др.] // Вакцинология. – 2023. – Том 26, № 3. – С. 331-337. – DOI: 10.34883/PI.2023.26.3.004.

10. Замотаева, Т.Л. Клинико-эпидемиологические особенности паротитной инфекции в 2023–2024 гг. в Республике Дагестан / Т.Л. Замотаева, Е.А. Черкашин, М.А. Ниналалов [и др.] // Медицинский алфавит. – 2025. – № 16. – С. 31–34. – DOI: 10.33667/2078-5631-2025-16-31-34.

11. Замотаева, Т.Л. Методические подходы и направления развития лабораторной диагностики эпидемического паротита / Т.Л. Замотаева, Е.А. Черкашин, И.В. Михеева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2025. – № 4. – С. 89–93. – DOI:10.18565/epidem.2025.15.4.89-93.

12. Замотаева, Т.Л. Получение и характеристика химерных BST-подобных полимераз и их применение в изотермической амплификации в сочетании с экспресс-методами выделения РНК на примере вируса эпидемического паротита / Т.Л. Замотаева, Е.А. Дедяева, О.О. Михеева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2025. – Т. 102, № 4. – С. 391-403. – DOI: 10.36233/0372-9311-604.

13. Иванов, Д.О. Клинический случай эпидемического паротита, протекавшего с орхоэпидидимитом у подростка / Д.О. Иванов, В.Н. Тимченко, Л.М. Починяева [и др.] // Педиатр. – 2020. – Т. 11. – № 6. – С. 71-78. – DOI: 10.17816/PED11671-78.

14. Карнаева, Н.С. Анализ заболеваемости и течения эпидемического паротита, по данным Республиканского центра инфекционных болезней г. Махачкалы / Н.С. Карнаева, Л.У. Улуханова, А.М. Гусниев [и др.] // Детские инфекции. – 2018. – № 17(1). – С. 53-57. – DOI: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-53-57.

15. Клиновская, А.С. Хронический неспецифический паренхиматозный паротит. Клинический случай / А.С. Клиновская, М.В. Смысленова, А.П. Гургенадзе [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2019. – № 19(4). – Р. 77-80. – DOI:10.33925/1683-3031-2019-19-4-77-80.

16. Контарова, Е.О. Современное состояние вакцинопрофилактики эпидемического паротита / Е.О. Контарова, Н.В. Юминова, Т.К. Борисова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, №1. – С. 77-80. – DOI: 10.15789/2220-7619-2011-1-77-80.

17. Кулак, М.В. Дифференциация вакцинного штамма Л-3 от других штаммов вируса паротита методом ПЦР / М.В. Кулак, П.А. Белавин, Н.А. Нетесова // Биопрепараты. – 2008. – № 4(32). – Р. 7-10.

18. Лыткина, И.Н., Унификация системы управления эпидемическим процессом кори, эпидемического паротита и краснухи / И.Н. Лыткина, И.В. Михеева // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 1 (56). – С. 9-16.

19. Мизаева, И.Э. Характеристика циркулирующих генотипов вируса эпидемического паротита в Российской Федерации в 2022–2025 гг. / И.Э. Мизаева, Ю.Н. Урбан, П.Е. Жердева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2025. – № 30 (4). – С. 293-296. – DOI: 10.51620/3034-1981-2025-30-4-293-296.

20. Михеева, И. В. Эпидемиологическая ситуация по эпидемическому паротиту в Российской Федерации в 1995-2016 гг. / И.В. Михеева // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 16(6). – С. 47-53. – DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-6-47-53.

21. Михеева, И.В. Оценка прямого экономического ущерба, наносимого корью, краснухой и эпидемическим паротитом / И.В. Михеева, М.А. Михеева // Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы: материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Москва, 19-20 октября 2020 г. – С.19.

22. Михеева, И.В. Проблемы цифровой трансформации аналитической подсистемы эпидемиологического надзора / И. В. Михеева, А.Н. Герасимов, В.Г. Акимкин // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2026. – Т. 16, № 1. – С. 6-11.

23. Михеева, И.В. Эпидемический паротит: Руководство для врачей / И.В. Михеева, Т.Е. Лисукова, К.И. Чекалина; под ред. В.И. Покровского. – М.: «Медицинское информационное агентство», 2009. – 248 с.

24. Михеева, И.В. Иммунопрофилактика - стратегическое научное направление в истории Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора / И.В. Михеева // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2023. – № 13(2). – С. 14-20. – DOI: 10.18565/epidem.2023.13.2.14-20.

25. Надтока, М. И. Таргетное секвенирование в диагностике инфекционных заболеваний: современное состояние и перспективы / М.И. Надтока, Г.В. Роев, К.Ф. Хафизов [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2026. – Т. 25, № 1. – С. 111-120. – DOI: 10.31631/2073-3046-2026-25-1-111-120.

26. Ниналалов, М.А. Микст-инфекция: корь и эпидемический паротит / М.А. Ниналалов, С.Г. Нурмагомедова, З.Г. Тагирова [и др.] // РМЖ. – 2024. – № 6. – С. 39-42.

27. Онищенко, Г.Г. Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 г. и дальнейшую перспективу / Г.Г. Онищенко, М.Н. Козовенко // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 9, № 3. – С. 10-15. – DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-10-15.

28. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году: Государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2025. – 424 с.

29. Павловский, Е. Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтной эпидемиологией зооантропонозов / Е.Н. Павловский. – Москва: Наука, 1964. – 211 с.

30. Патент № 2850880 C1 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68 Набор олигонуклеотидных праймеров для выявления РНК вируса эпидемического паротита: № 2025125416: заявл. 15.09.2025: опубл. 17.11.2025 / Т.Л. Замотаева,

Е.А. Черкашин, В.Г. Акимкин; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

31. Покровский, В. И. Описательное эпидемиологическое исследование: (ретроспективный эпидемиологический анализ) / В.И. Покровский, Н.Н. Филатов, И. П. Палтышев. – Москва: Санэпидмедиа, 2005. – 239 с.

32. Попова, А.Ю. Популяционный иммунитет к возбудителям кори, краснухи, паротита и дифтерии у населения некоторых районов Херсонской области / Попова А.Ю., Смирнов В.С., Егорова С.А. [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2025. – Т. 15, № 6. – С. 1159-1178. – DOI: 10.15789/2220-7619-MRM-18042.

33. Рубальская, Т.С. Генетическое разнообразие вируса эпидемического паротита в Российской Федерации / Т.С. Рубальская, Д.В. Ерохов, О.В. Цвиркун [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2025. – № 24(1). – С. 10-17. – DOI:10.31631/2073-3046- 2025-24-1-10-17.

34. Румбешт, С.А. Эпидемиологические особенности эпидемического паротита, эпидемиологический надзор и профилактика в мире и в Российской Федерации на современном этапе / С.А. Румбешт, А.Я. Миндлина // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2026. – Т. 25, № 3. – С. 28–37. – DOI: 10.31631/2073-3046-2026-25-3-28-37.

35. Семериков, В.В. Стандартное определение клинического случая эпидемического паротита и диагностическая эффективность применяемых тест-систем в современный период / В.В. Семериков, Л.В. Софронова, Н.О. Постаногова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – № 100(1). – P. 65-73. – DOI: 10.36233/0372-9311-340.

36. Семериков, В.В. Эпидемический паротит в России: эпидемическая ситуация, основные задачи и пути решения / В.В. Семериков, Н.В. Юминова, Н.О. Постаногова // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2019. – № 18 (6). – С. 75–80. – DOI: 10.31631/ 2073-3046-2019-18-6-75-80.

37. Симакова, Я.В. Оценка популяционного иммунитета к кори, краснухе и эпидемическому паротиту в Москве на современном этапе / Я.В. Симакова, В.А. Гущин, Т.А. Семененко [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2025. – № 70(2). – С. 133–146. –DOI: 10.36233/0507-4088-282.

38. Тагирова, З.Г. Анализ заболеваемости эпидемическим паротитом в Республике Дагестан / З.Г. Тагирова, Е.А. Арбулиева, С.А. Магомедова // Инфекционные болезни. – 2019. – № 17(3). – С. 20–25. – DOI: 10.20953/1729-9225-2019- 3-20-25.

39. Тураева, Н. В. Характеристика эпидемиологической ситуации по эпидемическому паротиту в мире на современном этапе / Н.В. Тураева, Р.А. Фролов, О.В. Цвиркун // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2021. – № 20(2). – С. 74-82. – DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-74-82.

40. Улуханова, Л.У. Семейная вспышка эпидемического паротита: клиническое наблюдение / Л.У. Улуханова, П.М. Ибрагимова, М.А. Ниналалов [и др.] // Детские инфекции. – 2024. – № 23(2). – Р. 69-72. – DOI.org/10.22627/2072-8107-2024-23-2-69-72.

41. Харченко, Г.А. Эпидемический паротит у детей – актуальность проблемы / Г.А. Харченко, О.Г. Кимирилова // Детские инфекции. – 2017. –№ 16(3). – Р. 28-31. – DOI:10.22627/2072-8107-2017-16-3-28-31.

42. Черкасский, Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии / Б.Л. Черкасский. – Москва, 2001. – 560 с.

43. Чехляева, Т.С. Обзор генетического разнообразия вируса эпидемического паротита (Paramyxoviridae: Orthorubulavirus: Mumps orthorubulavirus) / Т.С. Чехляева, Д.В. Ерохов, И.Ю. Андриевская [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2022. – № 67(2). – С. 95-106. – DOI: 10.36233/0507-4088-98.

44. Шахмарданов, М.З. Эпидемический паротит: случай из практики / М.З. Шахмарданов, В.В. Никифоров, А.А. Скрябина [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2024. – № 29(3). – С. 229-235. – DOI:10.17816/EID626856.

45. Эпидемиология: Учебник в 2 томах / Н.И. Брико, Л.П. Зуева, В.И. Покровский [и др.]. Том 1. – Москва: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2013. – 832 с.

46. Эпидемический паротит. Современные представления о возбудителе, клиника, диагностика, профилактика / Под ред. А. П. Агафонова. – Новосибирск: ЗАО «Медикобиологический Союз», 2007. – 82 с.

47. Agarwal, R., Atypical Mumps; are We Heading Towards an Outbreak? / R. Agarwal, A. Saxena, M. Grover // Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. – 2024. – № 76(5). – P. 4138-4145. – DOI: 10.1007/s12070-024-04802-9.

48. Agrawal, R. Epidemiological trends and determinants of mumps outbreaks: a systematic review and meta-analysis / R. Agrawal, T. Rehman, D. Sinha // Frontiers in Public Health. – 2025. – № 13. – P. 1711759. – DOI: 10.3389/fpubh.2025.1711759.

49. Ahizoune, A. Mild Encephalopathy/Encephalitis with Reversible Splenial Lesion Associated with Meningitis Related to Mumps Disease: An Unusual Presentation in a Male Adult / A. Ahizoune, Y. El-Adraoui, A. Bourazza // Cureus. – 2024. – № 16(6). – P. e61899. – DOI: 10.7759/cureus.61899.

50. Alkam, D. Genomic characterization of mumps viruses from a large-scale mumps outbreak in Arkansas, 2016 / D. Alkam, P. Jenjaroenpun, T. Wongsurawat [et al.] // Infect Genet Evol. – 2019. – № 75. –P. 103965. – DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103965.

51. Banerjee, A. Acute disseminated encephalomyelitis: complication of a vaccine preventable disease / A. Banerjee, R. Suthar, S. Vyas [et al.] // BMJ Case Rep. – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. e225710. – DOI: 10.1136/bcr-2018-225710.

52. Barrabeig, I. Viral etiology of mumps-like illnesses in suspected mumps cases reported in Catalonia, Spain / I. Barrabeig, J. Costa, A. Rovira [et al.] // Human Vaccines & Immunotherapeutics. – 2015. – № 11(1). – P. 282–287. – DOI: 10.4161/hv.36165.

53. Bodewes, R. Molecular epidemiology of mumps viruses in the Netherlands, 2017-2019 / R. Bodewes, L. Reijnen, J. Kerkhof [et al.] // PLoS ONE. – 2020. – № 15(9). – P. e0233143. – DOI: 10.1371/journal.pone.0233143.

54. Bodewes, R. Optimizing molecular surveillance of mumps genotype G viruses / R. Bodewes, K. van Rooijen, J. Cremer [et al.] // Infect Genet Evol. – 2019. – № 69. – P. 230-234. – DOI: 10.1016/j.meegid.2019.02.005.

55. Briggs, K. Immunogenicity of Mumps Virus Genotype G Vaccine Candidates in Jeryl Lynn-Immunized Mice / K. Briggs, C. Kirby, A.C. Beavis [et al.] //J Virol. – 2022. – № 96(8). – P. e0198321. – DOI: 10.1128/jvi.01983-21.

56. Bryant, P. Streamlined Whole-Genome Sequencing of Mumps Virus for High-Resolution Outbreak Analysis / P. Bryant, H. Caldwell, D.M. Lamson [et al.] // J Clin Microbiol. – 2022. – № 60(1). – P. e0084121. – DOI: 10.1128/JCM.00841-21.

57. Centrone, F. Non-mumps parotitis associated with influenza A/H3N2: A case series from Southern Italy during the 2024–2025 influenza season / F. Centrone, R. Melilli, A. Marziani [et al.] // Journal of Infection and Public Health. – 2025. –№ 18 (11). –P. 102907.

58. Choudhary, S. Acute Hydrocephalus Caused by Mumps Meningoencephalitis Mimicking Tubercular Meningitis: A Report of Two Cases / S. Choudhary, S.P. Vaddi, A.K. Sharma // The Pediatric Infectious Disease Journal. – 2025. – № 44(2). – P. e66. – DOI: 10.1097/INF.0000000000004556.

59. Connell, A.R. Mumps outbreaks in vaccinated populations-is it time to re-assess the clinical efficacy of vaccines? / A.R. Connell // Front Immunol. –2020. – № 11. – P. 2089. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.02089.

60. Cui, A. Evolutionary analysis of mumps viruses of genotype F collected in mainland China in 2001-2015 / A. Cui, P. Rivailler, Z. Zhu // Sci Rep. – 2017. –№ 7(1). – P. 17144. – DOI: 10.1038/s41598-017-17474-z.

61. Defendi G.L., Demirci C.S., Abuhammour W. Mumps. Medscape. – 2025. – [Электронный ресурс]. – URL: https://emedicine.medscape.com/article/966678-overview (дата обращения 16.02.26).

62. Di Pietrantonj, C. Vaccines for measles, mumps, rubella, and varicella in children / C. Di Pietrantonj, A. Rivetti, P. Marchione [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2021. – № 11. – P. CD004407. – DOI: 10.1002/14651858.CD004407.pub5.

63. Dilcher, M. Monitoring viral genetic variation as a tool to improve molecular diagnostics for Mumps Virus / M. Dilcher, K. Barratt, J. Douglas [et al.] // J Clin Microbiol. – 2018. – № 56(10). – P. e00405-18. – DOI: 10.1128/JCM.00405-18.

64. Elbadawi, L.I. Non-mumps Viral Parotitis During the 2014-2015 Influenza Season in the United States / L.I. Elbadawi, P. Talley, M.A. Rolfes [et al.] // Clin Infect Dis. – 2018. – № 67(4). – P. 493-501. – DOI: 10.1093/cid/ciy137.

65. European Centre for Disease Prevention and Control. Mumps. Annual epidemiological report 2021. – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/mumps-annual-epidemiological-report-2021 (дата обращения 17.02.26).

66. Fatima, H. Molecular characterization and genetic diversity of mumps virus genotype G in Pakistan during the 2023 outbreaks / H. Fatima, M. Salman, Z. Jamal [et al.] // Infect Genet Evol. – 2025. – № 132. – P. 105766. – DOI: 10.1016/j.meegid.2025.105766.

67. Flahault, A. Virtual surveillance of communicable diseases: a 20-year experience in France / A. Flahault, T. Blanchon, Y. Dorléans [et al.] // Stat Methods Med Res. – 2006. – № 15(5). – P. 413-21. – DOI: 10.1177/0962280206071639.

68. Forgione, R.E. Characterization of Natural and Synthetic Sialoglycans Targeting the Hemagglutinin-Neuraminidase of Mumps Virus / R. E. Forgione, C. Di Carluccio, F. Milanesi [et al.] // Frontiers in Chemistry. – 2021. – Vol. 9. – P. 711346. – DOI: 10.3389/fchem.2021.711346.

69. Forgione, R.E. Structural basis for Glycan-receptor binding by mumps virus hemagglutinin-neuraminidase / R.E. Forgione, C. Di Carluccio, M. Kubota // Sci Rep. – 2020. – № 10(1). – P. 1589. – DOI: 10.1038/s41598-020-58559-6.

70. Franz, S. Mumps virus SH protein inhibits NF-κB activation by interacting with tumor necrosis factor receptor 1, interleukin-1 receptor 1, and Toll-like receptor 3 complexes / S. Franz, P. Rennert, M. Woznik [et al.] // J Virol. – 2017. – № 91. – P. e01037-17. – DOI:10.1128/JVI.01037-17.

71. Frost, J.R. Exploring the Mumps Virus Glycoproteins: A Review / J.R. Frost, S. Shaikh, A. Severini // Viruses. – 2022. – № 14(6). P. 1335. – DOI: 10.3390/v14061335.

72. Frost, J.R. Genomic Characterization of Three Canadian Mumps Outbreaks Demonstrates Endemic Transmission in Canada / J.R. Frost, G.E. Seo, K. Dust [et al.] // Viruses. – 2024. – № 16(8). – P. 1280. – DOI: 10.3390/v16081280.

73. Fumagalli, M.J. Stability of SARS-CoV-2 and other airborne viruses under different stress conditions / M.J. Fumagalli, C.F. Capato, L.A. de Castro-Jorge [et al.] // Arch Virol. – 2022. – № 167(1). – P. 183-187. – DOI: 10.1007/s00705-021-05293-7.

74. Galvan, C. Glycosylation as a strategic mechanism for measles virus and mumps virus immune evasion / C. Galvan, I.G. Ovsyannikova, R.B. Kennedy [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol. 16. – P. 1716829. – DOI: 10.3389/fimmu.2025.1716829.

75. Gavilán, A.M. Comparison of circulation patterns of mumps virus in the Netherlands and Spain (2015–2020) / A.M. Gavilán, L. van de Nes-Reijnen, A. Castellanos [et al.] // Front. Microbiol. – 2023. – № 14. – P. 1207500. – DOI: 10.3389/fmicb.2023.1207500.

76. Gavilán, A.M. Investigating Local Patterns of Mumps Virus Circulation, Using a Combination of Molecular Tools / A.M. Gavilán, P. Perán-Ramos, J.C. Sanz [et al.] // Viruses. – 2023. – № 15(12). – P. 2420. – DOI: 10.3390/v15122420.

77. Gokhale, D.V. Disentangling the causes of mumps reemergence in the United States / D.V. Gokhale, T.S. Brett, B. He [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2023. – № 120(3). – P. e2207595120. – DOI: 10.1073/pnas.2207595120.

78. Gouma, S. Differences in antigenic sites and other functional regions between genotype A and G mumps virus surface proteins / S. Gouma, T. Vermeire, S. Van Gucht [et al.] // Sci Rep. – 2018. – № 8(1). – P. 13337. – DOI: 10.1038/s41598-018-31630-z. Erratum in: Sci Rep. – 2020. – № 10(1). – P. 5456. – DOI: 10.1038/s41598-020-62301-7.

79. Gouma, S. Mumps virus pathogenesis: Insights and knowledge gaps / S. Gouma, M.P. Koopmans, R.S. van Binnendijk // Hum Vaccin Immunother. – 2016. № 12(12). – P. 3110-3112. – DOI: 10.1080/21645515.2016.1210745.

80. Gouma, S. Severity of mumps disease is related to MMR vaccination status and viral shedding / S. Gouma, S.J. Hahné, D.B. Gijselaar [et al.] // Vaccine. – 2016. – Vol 7, №34(16). – P. 1868-73. – DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.02.070.

81. Gouma, S. Two major mumps genotype G variants dominated recent mumps outbreaks in the Netherlands (2009–2012) / S. Gouma, J. Sane, D. Gijselaar [et al.] // Journal of General Virology. – 2014. – № 95(5). – P. 1074-1082. – DOI: 10.1099/vir.0.061739-0.

82. Guidelines for the Prevention and Control of Mumps Outbreaks in Canada // Canada Communicable Disease Report. – 2010. – Vol. 36, suppl. 1. – P. 1-46. – DOI: 10.14745/ccdr.v36i00as1.

83. Hulo, C. ViralZone: a knowledge resource to understand virus diversity / C. Hulo, E. de Castro, P. Masson [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2011. – № 39. – P. D576-82. – DOI: 10.1093/nar/gkq901.

84. Hviid, A. Mumps / A. Hviid, S. Rubin, K. Mühlemann // Lancet. – 2008. – № 371(9616). – P. 932-44. – DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60419-5

85. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. – [Электронный ресурс]. – URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id =202401635&taxon_name=Orthorubulavirus%20parotitidis (дата обращения 16.02.26).

86. Jacqueline, C. Utility of MF-non-coding region for measles molecular surveillance during post-elimination phase, Spain, 2017–2020 / C. Jacqueline, A.M. Gavilán, N. López-Perea [et al.] // Front. Microbiol. – 2023. – № 14. – P. 1143933. – DOI: 10.3389/fmicb.2023.1143933.

87. Jin, L. Genomic diversity of mumps virus and global distribution of the 12 genotypes / L. Jin, C. Örvell, R. Myers [et al.] // Rev Med Virol. – 2015. – № 25(2). – P. 85-101. – DOI: 10.1002/rmv.1819.

88. Katoh, H. The R2TP complex regulates paramyxovirus RNA synthesis / H. Katoh, T. Sekizuka, Y. Nakatsu [et al.] // PLoS Pathog. – 2019. – № 15(5). – P. e1007749. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1007749.

89. Kauffmann, F. Measles, mumps, rubella prevention: how can we do better? / F. Kauffmann, C. Heffernan, F. Meurice [et al.] // Expert Rev Vaccines. – 2021. – № 20(7). – P. 811-826. – DOI: 10.1080/14760584.2021.1927722.

90. Kidokoro, M. Nationwide and long-term molecular epidemiologic studies of mumps viruses that circulated in Japan between 1986 and 2017 / M. Kidokoro, T. Shiino, T. Yamaguchi [et al.] // Front. Microbiol. – 2022. – № 13. – P. 728831. –DOI: 10.3389/fmicb.2022.728831.

91. Kidokoro, M. Surveillance Team for Mumps Virus in Japan. Nationwide and long-term molecular epidemiologic studies of mumps viruses that circulated in Japan between 1986 and 2017 / M. Kidokoro, T. Shiino, T. Yamaguchi [et al.] // Front Microbiol. – 2022. – № 13. – P. 728831. – DOI: 10.3389/fmicb.2022.728831.

92. Kubota, M. Unique Tropism and Entry Mechanism of Mumps Virus / M. Kubota, T. Hashiguchi // Viruses. – 2021. – Vol. 13, № 9. – P. 1746. – DOI: 10.3390/v13091746.

93. Kubota, T. Mumps virus V protein antagonizes interferon without the complete degradation of STAT1 / T. Kubota, N. Yokosawa, S. Yokota [et al.] // J Virol. – 2005. – № 79(7). – P. 4451-9. – DOI: 10.1128/JVI.79.7.4451-4459.2005.

94. Kumar, S. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li [et al.] // Molecular Biology and Evolution. – 2018. – Vol. 35. – № 6. – P. 1547-1549. – DOI: 10.1093/molbev/msy096.

95. Lam, E. Mumps: an update on outbreaks, vaccine efficacy, and genomic diversity / E. Lam, J.B. Rosen, J.R. Zucker // Clin Microbiol Rev. – 2020. – № 33. –P. e00151-19. – DOI:10.1128/CMR .00151-19

96. Lee, J.Y. Molecular characterization of two genotypes of mumps virus circulated in Korea during 1998–2001 / J.Y. Lee, Y.Y. Kim, G.C. Shin [et al.] // Virus Res. – 2003. – № 97(2). – P. 111-116. –DOI: 10.1016/j.virusres.2003.08.006.

97. Lewnard, J.A. Vaccine waning and mumps re-emergence in the United States / J.A. Lewnard, Y.H. Grad // Sci Transl Med. – 2018. – № 10(433). – P. eaao5945. – DOI: 10.1126/scitranslmed.aao5945.

98. L'Huillier, A.G. Laboratory testing and phylogenetic analysis during a mumps outbreak in Ontario, Canada / A.G. L'Huillier, A. Eshaghi, C.S. Racey [et al.] // Virol J. – 2018. – № 15(1). – P. 98. – DOI: 10.1186/s12985-018-0996-5.

99. Lindburg, M. Infectious Sialadenitis / M. Lindburg, M.A. Ogden // Curr Otorhinolaryngol. – 2021. – № 9. – P. 87-91. – DOI: 10.1007/s40136-020-00315-5.

100. Liu, J.J. Etiological Analysis of Viral Encephalitis in Children in Zhejiang Province from 2018 to 2019 / J.J. Liu, L.P. Teng, C.Z. Hua [et al.] // Diagnostics (Basel). – 2022. – № 12(8). – P. 1964. – DOI: 10.3390/diagnostics12081964.

101. Magurano, F. Mumps clinical diagnostic uncertainty / F. Magurano, M. Baggieri, A. Marchi [et al.] // Eur J Public Health. –2018. – № 28(1). – P. 119-123. – DOI: 10.1093/eurpub/ckx067.

102. Maillet, M. Mumps outbreak and laboratory diagnosis / M. Maillet, E. Bouvat, N. Robert [et al.] // J Clin Virol. – 2015. – № 62. – P. 14-9. – DOI: 10.1016/j.jcv.2014.11.004.

103. Marin, M. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices for Use of a Third Dose of Mumps Virus-Containing Vaccine in Persons at Increased Risk for Mumps During an Outbreak / M. Marin, M. Marlow, K.L. Moore // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. – 2018. – № 67(1). – P. 33-38. – DOI: 10.15585/mmwr.mm6701a7.

104. Mumps: CDNA National Guidelines for Public Health Units / Communicable Diseases Network Australia (CDNA). – [Электронный ресурс]. – URL: www.health.gov.au (дата обращения: 24.03.2026).

105. Mumps: clinical knowledge summary / National Institute for Health and Care Excellence (NICE). – [Электронный ресурс]. – URL: cks.nice.org.uk (дата обращения: 24.03.2026).

106. Mumps: Epicenter - Epidemiology for Public Health / Istituto Superiore di Sanità. – [Электронный ресурс]. – URL: www.epicentro.iss.it (дата обращения 24.03.2026).

107. Mumps: Information for Laboratories / Centers for Disease Control and Prevention. – [Электронный ресурс]. – URL:

https://www.cdc.gov/mumps/php/laboratories/index.html (дата обращения 24.03.2026).

108. Mumps reported cases and incidence. – [Электронный ресурс]. – URL: https://immunizationdata.who.int/global/wiise-detail-page/mumps-reported-cases-and-incidence?GROUP=Countries&YEAR= (дата обращения 17.02.26).

109. Mumps: RKI Guide / Robert Koch Institute. – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.rki.de/DE/Aktuelles/Publikationen/RKI-Ratgeber/Ratgeber/Ratgeber_Mumps.html (дата обращения: 24.03.2026).

110. Mumps virus nomenclature update: 2012 // Weekly Epidemiological Record. – 2012. – Vol. 87, № 22. – P. 217-224. – URL: http://www.who.int/wer (дата обращения: 03.09.2026).

111. Mumps virus vaccines: WHO Position Paper // Weekly Epidemiological Record. – 2024. – Vol. 99, № 11. – P. 115-133. – URL: https://www.who.int/publications/i/item/who-wer-9911-115-133 (дата обращения: 13.08.2026).

112. Nakashita, M. Estimated number of mumps cases based on clinical and laboratory data from sentinel surveillance in Kanazawa, Japan / M. Nakashita, H. Kamiya, R. Watanabe [et al.] // Jpn J Infect Dis. – 2025. – DOI: 10.7883/yoken.JJID.2024.331.

113. Nallaparaju, J. Mumps Infection Complicated by Hepatitis / J. Nallaparaju, J. Saravanan // Indian J. Pediatr. – 2025. – Vol. 92, № 7. – P. 793. – DOI: 10.1007/s12098-025-05586-8.

114. National Center for Biotechnology Information (NCBI). – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore /?term=Mumps+ orthorubulavirus%5Bporgn%3A__txid2560602%5D (дата обращения 17.02.2026).

115. NEB LAMP Primer Design Tool. – [Электронный ресурс]. – URL: https://lamp.neb.com/#!/ (дата обращения 11.03.26).

116. Nunn, A. Diagnostic yield of laboratory methods and value of viral genotyping during an outbreak of mumps in a partially vaccinated population in British Columbia, Canada / A. Nunn, S. Masud, M. Krajden // J Clin Microbiol. – 2018. – № 56. – P. e01954-17. –DOI:10.1128/JCM.01954-17.

117. Ohfuji, S. Mumps-Related Disease Burden in Japan: Analysis of JMDC Health Insurance Reimbursement Data for 2005-2017 / S. Ohfuji, A. Takagi, T. Nakano // J. Epidemiol. – 2021, Vol. 31, № 8. – P. 464–470. – DOI: 10.2188/jea. JE20200048.

118. Okafuji, T. Rapid diagnostic method for detection of mumps virus genome by loop-mediated isothermal amplification / T. Okafuji, N. Yoshida, M. Fujino // J Clin Microbiol. – 2005. – № 43(4). – P. 1625-31. – DOI: 10.1128/JCM.43.4.1625-1631.2005.

119. OligoAnalyzer Tool. – [Электронный ресурс]. – URL: https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer (дата обращения 11.03.2026).

120. Ozawa, S. Modeling the economic burden of adult vaccine-preventable diseases in the United States. / S. Ozawa, A. Portnoy, H. Getaneh // Health Affairs. – 2016. – Vol. 35, № 11. – P. 2124-2132. – DOI: 10.1377/hlthaff.2016.0462.

121. Park, S.H. Molecular Epidemiology and Lab-based Surveillance of Mumps in the Republic of Korea / S.H. Park, Y.J. Choi, J.H. Kim [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2024. – Vol. 96, № 3. – P. e29450. – DOI: 10.1002/jmv.29450.

122. Patel, A.R. Alveolar macrophages are early targets of mumps virus / A.R. Patel, A. Garg, H.T. Rosberger [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2024. – № 121(52). – P. e2410954121. – DOI:10.1073/pnas.2410954121.

123. Plans, P. New preventive strategy to eliminate measles, mumps and rubella from Europe based on the serological assessment of herd immunity levels in the population / P. Plans // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2013. – Vol. 32, № 7. – P. 961–966. – DOI: 10.1007/ s10096-013-1836-6.

124. Poggio, G.P. Nested PCR for rapid detection of mumps virus in cerebrospinal fluid from patients with neurological diseases / G.P. Poggio, C. Rodriguez, D. Cisterna // J Clin Microbiol. – 2000. – № 38(1). P. 274-8. – DOI: 10.1128/JCM.38.1.274-278.2000.

125. Popova, A.Y. Herd Immunity to the Measles, Mumps and Rubella Viruses Among the Belgradian Population in May, 2024 / A.Y. Popova, V.S. Smirnov, S.A. Egorova [et al.] // Vaccines 2025. – № 13. – P. 652. – DOI:10.3390/vaccines13060652.

126. Rausch-Phung E.A. Mumps. – 2025. – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534785 (дата обращения 16.02.26).

127. Risalvato, J. A region of mumps virus nucleoprotein affects defective interfering particle production / J. Risalvato, J. Zengel, M. Phillips [et al.] // Journal of General Virology. – 2025. – Vol. 106, № 4. – DOI: 10.1099/jgv.0.002085.

128. Rubin, S. Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus / S. Rubin, M. Eckhaus, L.J. Rennick [et al.] //J Pathol. – 2015. – № 235(2). – P. 242-52. – DOI: 10.1002/path.4445.

129. Russell, R.R. The neurological complications of mumps / R.R. Russell, J.C. Donald // Br Med J. – 1958. – № 2(5087). – P. 27-30. – DOI: 10.1136/bmj.2.5087.27.

130. Santos-Lopes, G. Structure-function analysis of two variants of mumps virus hemagglutinin-neuraminidase protein / G. Santos-Lopes, T. Scior, M. del T. Borraz-Arguello [et al.] // The Brazilian Journal of Infectious Diseases. – 2009. – Vol. 13, № 1. – P. 24-34. – DOI: 10.1590/s1413-86702009000100007.

131. Sarmah, K. Molecular characterization of Mumps virus genotype C detected from Dibrugarh district of Assam, India / K. Sarmah, K. Sarma, B. Borkakoty [et al.] // Indian J Med Res. – 2024. – № 159(6). – P. 663-670. – DOI: 10.25259/IJMR_2312_23.

132. Scatti-Regàs, A. Clinical features and origin of cases of parotiditis in an emergency department / A. Scatti-Regàs, M.C. Aguilar-Ferrer, A. Antón-Pagarolas [et al.] // Anales de Pediatría (English Edition). – 2020. – № 93(2). – P. 127-129. –DOI: 10.1016/j.anpedi.2019.11.004.

133. Schoch, C.L. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools / C.L. Schoch // Database (Oxford). – 2020. – P. baaa062. – DOI:10.1093/database/baaa062.

134. Shah, M. Mumps Outbreak in a Highly Vaccinated University-Affiliated Setting Before and After a Measles-Mumps-Rubella Vaccination Campaign-Iowa, July 2015-May 2016 / M. Shah, P. Quinlisk, A. Weigel [et al.] // Clin Infect Dis. – 2018. – № 66(1). – P. 81-88. – DOI:10.1093/cid/cix718.

135. Shaikh, S. Serologic Cross-Reactivity between the Mumps Virus Vaccine Genotype A Strain and the Circulating Genotype G Strain/ S. Shaikh, M. Carpenter, L. Lin [et al.] // Viruses. – 2024. – Vol. 16. – P. 1434. – DOI: 10.3390/v16091434.

136. Shepersky, L. Mumps in Vaccinated Children and Adolescents: 2007-2019 / L. Shepersky, M. Marin, J. Zhang // Pediatrics. – 2021. –№ 148(6). – P. e2021051873. – DOI: 10.1542/peds.2021-051873.

137. Soetens, L. Visual tools to assess the plausibility of algorithm-identified infectious disease clusters: an application to mumps data from the Netherlands dating from January 2009 to June 2016 / L. Soetens, J.A. Backer, S. Hahné [et al.] // Euro Surveill. – 2019. – № 24(12). – P. 1800331. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.12.1800331.

138. Spampinato, S. Coronavirus OC43 and Influenza H3N2 Concomitant Unilateral Parotitis: The Importance of Laboratory Tests in Mumps-Like Parotitis / S. Spampinato, P. Pavone, G. Cacciaguerra [et al.] // Pathogens. – 2023. – № 12. – P. 1309. – DOI:10.3390/pathogens12111309.

139. Stapleton, P.J. Evaluating the use of whole genome sequencing for the investigation of a large mumps outbreak in Ontario, Canada / P.J. Stapleton, A. Eshaghi, C.Y. Seo [et al.] // Sci Rep. – 2019. – № 9(1). –P. 12615. – DOI: 10.1038/s41598-019-47740-1.

140. T. E. C. Jr. Hippocrates describes mumps followed by orchitis // Pediatrics. – № 40 (3). – P. 420. – DOI: 10.1542/peds.40.3.420.

141. The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). – [Электронный ресурс]. – URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi (дата обращения 17.02.2026).

142. Trabert, B. Childhood infections, orchitis and testicular germ cell tumours: a report from the STEED study and a meta-analysis of existing data / B. Trabert, B.I. Graubard, R.L. Erickson [et al.] // Cancer. – 2012. – Vol. 106, № 7. – P. 1331–1334. – DOI: 10.1038/ bjc.2012.45.

143. Tracing the story of mumps: a timeline // Pharmaceutical Technology. – 2018. – URL: https://pharma.nridigital.com/pharma_jun18/tracing_the_story_of_mumps_a_timeline (дата обращения 16.02.26).

144. Tsoucalas, G. The Thasian epidemic of mumps during the 5th century BC / G. Tsoucalas, K. Laios, M. Karamanou [et al.] // Infez. Med. – 2013. – № 21. – P. 149–150.

145. Veneti, L. Large outbreak of mumps virus genotype G among vaccinated students in Norway, 2015 to 2016 / L. Veneti, K. Borgen, K.S. Borge [et al.] // Euro Surveill. – 2018. – № 23(38). – P. 1700642. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.38.1700642.

146. Weekly Epidemiological Record. – 2024. – Vol 99, № 11. – P. 115-134. – [Электронный ресурс]. – URL: http://www.who.int/wer (дата обращения 17.02.26).

147. WHO. Mumps: Vaccine Preventable Diseases Surveillance Standards. – 2018. – [Электронный ресурс]. – URL: https://www.who.int/publications/m/item/vaccine-preventable-diseases-surveillance-standards-mumps (дата обращения 16.02.26).

148. Willocks, L.J. An outbreak of mumps with genetic strain variation in a highly vaccinated student population in Scotland / L.J. Willocks, D. Guerendiain, H.I. Austin [et al.] // Epidemiol Infect. – 2017. – № 145(15). – P. 3219-3225. – DOI:10.1017/S0950268817002102.

149. Wohl, S. Combining genomics and epidemiology to virus transmission in the United States / S. Wohl, H.C. Metsky, S.F. Schaffner [et al.] // PLoS Biol. – 2020. – № 18(2). – P. e3000611. – DOI: 10.1371/journal.pbio.3000611.

150. Won, H. Improved Immunogenicity of the Inactivated F Genotype Mumps Vaccine against Diverse Circulating Mumps Viruses in Mice / H. Won, A.R. Kim, G.T. Chung [et al.] // Vaccines (Basel). – № 11(1). – P. 106. – DOI: 10.3390/vaccines11010106.

151. Wu, H. Mumps Orchitis: Clinical Aspects and Mechanisms / H. Wu, F. Wang, D. Tang // Front Immunol. – 2021. – № 12. – P. 582946. – DOI:10.3389/fimmu.2021.582946.

152. Yeon Kim, S. Booster doses of an inactivated F genotype mumps vaccine enhance immunogenicity in mice / S. Yeon Kim, T.Y. Lee, Y.H. Hwang [et al.] // Vaccine X. – 2024. – № 17. – P. 100437. – DOI: 10.1016/j.jvacx.2024.100437.

153. Yoo, J.W. Epidemiology of mumps, mumps complications, and mumps orchitis in Korea using the National Health Insurance Service database / J.W. Yoo, B.S. Tae, H.K. Chang [et al.] // Investig Clin Urol. – 2023. – № 64(4). – P. 412-417. – DOI: 10.4111/icu.20230064.

154. Yung, C.F. Estimating true hospital morbidity of complications associated with mumps outbreak, England, 2004-05/ C.F. Yung, M. Ramsay // Euro Surveill. –2016. – Vol. 21, № 33. – P. 30320. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.33.30320.

155. Zhao, Y. Challenging 21-day quarantine guidelines for mumps in Beijing: Data-driven recommendations for a high-coverage MMR vaccination era (2019-2024) / Y. Zhao, Y. Cao, F. Liu [et al.] // Human Vaccines & Immunotherapeutics. – 2025. – Vol. 21, № 1. – P. 2555087. – DOI: 10.1080/21645515.2025.2555087.