

Информационное письмо

«О ситуации по холере в Сибири и на Дальнем Востоке в 2019 г. и прогнозе на 2020 г.»

Миронова Л.В., Хунхеева Ж.Ю., Пономарева А.С., Басов Е.А., Гладких А.С.,
Бочалгин Н.О., Федотова И.С., Фортунатова А.В., Урбанович Л.Я.,
Балахонов С.В.

На текущем этапе седьмой пандемии холера остается одной из актуальных и социально-значимых опасных инфекционных болезней, несмотря на предпринимаемые меры по снижению уровня заболеваемости во всем мире со стороны ВОЗ. За последнее десятилетие наблюдается распространение холеры, характеризующееся как крупными вспышками в странах Карибского бассейна, Йемене, в отдельных странах Африки, так и заносами на благополучные по холере территории.

В азиатском регионе продолжается эпидемия холеры в зоне военного конфликта в Йемене, где по официальным данным ВОЗ в 2017 г. зарегистрировано беспрецедентное количество больных холерой – свыше одного миллиона (1 032 481). В 2018 г. отмечено снижение числа заболевших в 2,8 раза (371 326) по сравнению с предыдущим годом. В 2019 г. по неофициальным данным сайта ProMED-mail в стране сохранялась тенденция к нарастанию числа случаев заболевания с подозрением на холеру. Значительное число случаев заболевания в 2019 г. зарегистрировано в провинциях Йемена (2019 г.) – Аманат аль-Азима (81 947), Аль-Худайда (27 128), Сана (69 526), Хаджа (53 794), Дхамар (48 745), Ибб (50 950), Лахдж (5013) и Арман (38 077). В других странах Азии (по состоянию на 2018-2019 гг.) наиболее неблагоприятная ситуация по холере складывалась в Бангладеш, Индии, Малайзии, Филиппинах. Единичные случаи холеры в 2018 г. выявлены в Иране (7), Ираке (3), Японии (4), Непале (7), Омане (1), Республике Корея (2), Сингапуре (2), Тайланде (6). В 2019 г. – начале 2020 г. проявления холеры зафиксированы в Индии (штат Одиша, Карнатака), Малайзии (штата Сабах)

В большинстве стран Африканского континента ситуация по холере нестабильная. Так по данным ВОЗ в 2018 г. на территории 16 стран зафиксировано 120 652 случая холеры (Ангола, Бурунди, Камерун, Республика Конго, ДРК, Кения, Либерия, Малави, Мозамбик, Нигер, Нигерия, Сомали, Уганда, Танзания, Замбия, Зимбабве). В 2019 г. неблагополучие по холере сохранялось в Кении (4476 случаев с 37 летальными исходами), Нигерии (805 случаев), Судане (323 случая), Эфиопии (525 случаев), Демократической Республике Конго (ДРК) (свыше 120 тыс. случаев заболевания с 260 смертельными исходами).

В странах Карибского бассейна, в т.ч. в республике Гаити и Доминиканской Республике, ситуация по холере остается неблагополучной, несмотря на принятые меры по снижению уровня заболеваемости. В 2018 г. в Республике Гаити зарегистрировано 3 777 случаев холеры (41 – с летальным исходом), в Доминиканской Республике – 118 случаев с одним смертельным исходом.

Обстановка по холере в РФ определяется высоким риском завоза возбудителя холеры и возможным его накоплением в поверхностных водоемах с последующим развитием острых вспышек.

Согласно данным ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора за 2019 г. на территории РФ из поверхностных водоемов изолировано 27 нетоксигенных гемолизопозитивных холерных вибрионов биовара Эль Тор сероварианта Инаба, Огава и R-варианта в г. Севастополе, Республике Калмыкия, Забайкальском, Хабаровском краях, Иркутской, Ростовской, Липецкой областях [Информация о биологических свойствах холерных вибрионов O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации в 2019 году].

В рамках эпидемиологического надзора холерой в субъектах Сибири и Дальнего Востока в 2019 г. на наличие возбудителя холеры обследовано 8222 человека, из которых 98,8 % (8120) – больные ОКИ, 0,2 % (13) – умершие от острой кишечной инфекции и 1,1 % (89) – обследованные на

вибрионосительство (табл. 1). Во всех случаях бактериологически холерный вибрион не обнаружен.

Таблица 1

Данные по обследованию людей на холеру на отдельных территориях Сибири и Дальнего Востока

	Приморский край	Кемеровская область	Новосибирская область	Иркутская область	Сахалинская область	Республика Алтай	Республика Бурятия	Забайкальский край	Томская область	Хабаровский край	Амурская область	ЕАО	Республика Хакасия	Республика Тува	Магаданская область	Ханты-Мансийский автономный округ
Количество обследованных лиц, из них:	7580	207	157	46	1	5	12	58	10	131	2	1	1	1	1	9
больные ОКИ	7579	206	157	46	1	5	12	38		67			1	1	1	6
умершие от ОКИ	1	1							10	1						
обследованные на вибрионосительство								20		63	2	1				3

В ходе мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов Сибири и Дальнего Востока за анализируемый период была отобрана 13771 проба, из них воды – 12173, ила – 1593. В Приморском крае, относящемся ко II типу по эпидемическим проявлениям холеры, отобрано и исследовано 2805 проб (20,4 %). В субъектах III типа А и Б подтипов исследовано 7119 (53,1%) и 3330 проб (24,8 %), соответственно. В регионах подтипа В исследовано 517 проб (3,8 %). Кроме этого, на отдельных территориях исследованию подвергались пробы централизованного и нецентрализованного водоснабжения, а также хозяйственно-бытовые сточные воды.

По итогам бактериологического анализа воды поверхностных водоемов на наличие холерного вибриона на курируемой территории было изолировано три штамма *V. cholerae* O1 серогруппы Эль Тор в Забайкальском (n=2), Хабаровском краях (n=1) и один штамм *V. cholerae* R-вариант – на территории Иркутской области.

Наиболее широко вибриофлора поверхностных водоемов представлена *V. cholerae* неO1/O139 серогрупп: на территории Сибири и Дальнего Востока в 2019 г. выделен 940 штамм (таблица 2).

Таблица 2

Количество изолированных штаммов *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп на территориях Сибири и Дальнего Востока в 2019 г.

	Приморский край	Алтайский край	Красноярский край	Кемеровская область	Омская область	Иркутская область	Республика Саха (Якутия)	Республика Бурятия	Забайкальский край	Хабаровский край	Амурская область	Республика Тува	Республика Хакасия
Всего штаммов <i>V. cholerae</i> не O1/ O139, из них:	189	50	178	111	81	28	44	62	136	45	2	11	3
в зонах санитарной охраны	24	1	3	16	42		2	11	7	2		3	
в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод	59	8	9	20	11	2	1	8	45	34			
в местах организованной рекреации	60	2	158	33	28			3	11	9	2	7	3
в местах неорганизованной рекреации	46	39		42		26	41	40	73			1	
объекты централизованного водоснабжения			8										
объекты нецентрализованного водоснабжения													
хозяйственно-бытовые сточные воды													
другие объекты													

Кроме того, на территории Приморского края изолировано 285 штаммов алгинолитического вибриона и 78 – парагемолитического.

При анализе территориального распределения установлено, что два штамма *V. cholerae* O1 Эль Тор изолированы в Забайкальском крае из оз. Кенон (стационарные точки №№53, 54 «место сброса технической воды ГРЭС», «150 м ниже места сброса технической воды ТЭЦ», соответственно). В Хабаровском крае штамм *V. cholerae* O1 Эль Тор изолирован из сточных вод КНС-4. Холерный вибрион R-варианта выделен из р. Ушаковка г. Иркутска,

Иркутской области, из проб воды которой в 2018 г. также имело место выделение культуры *V. cholerae* R-варианта.

Холерные вибрионы не O1/O139 серогрупп обнаружены в водоемах на территории 14 субъектов Сибири и Дальнего Востока.

По микробиологическим свойствам выделенные из водоемов Забайкальского, Хабаровского краев и Иркутской области *V. cholerae* O1 серогруппы и R-варианта – типичные представители рода *Vibrio*, вида *V. cholerae*: грамтрицательные изогнутые палочки, подвижные, оксидазоположительны, ферментируют глюкозу в аэробных и анаэробных условиях до кислоты без образования газа, ферментируют сахарозу, маннозу, не ферментируют лактозу, арабинозу, инозит, декарбоксилируют лизин и орнитин и не обладают дигидролазой аргинина. Все штаммы *V. cholerae* O1 агглютинируются до титра холерной диагностической O1 сывороткой и одной из вариантоспецифических: сывороткой Инаба – выделенные в Забайкальском крае штаммы и Огава сывороткой – из Хабаровского края. Холерный вибрион R-варианта, выделенный в г. Иркутске, агглютинируется до титра с RO-сывороткой и не реагирует со всеми остальными холерными диагностическими сыворотками.

При оценке чувствительности к холерным диагностическим бактериофагам установлено, что из четырех анализируемых штаммов к классическому фагу чувствительны два изолята *V. cholerae*, выделенные в Забайкальском крае, к фагу эльтор – ранее обозначенные изоляты *V. cholerae* из Забайкалья (в цельном разведении) и штамм из Хабаровского края (в разведении 10^{-2}).

Оперативная идентификация выделенных культур MALDI-ToF масс-спектрометрическим методом по профилю константных белков показала 100 % соответствие таксономической принадлежности результатам бактериологического анализа: все штаммы отнесены к роду *Vibrio*, виду *V. cholerae* со значениями индекса «maxscore» от 2,307 до 2,445 (достоверная идентификация до вида).

При определении антибиотикочувствительности диско-диффузионным методом установлена чувствительность изолированных вибрионов к ряду антибактериальных препаратов, в т.ч. к гентамицину, левомицетину, левофлоксацину, норфлоксацину, налидиксовой кислоте, цiproфлоксацину, офлоксацину. У трех штаммов выявлена устойчивость к фуразолидону и канамицину, у двух – к доксициклину, у одного – к ампициллину (таблица 3). Промежуточные значения зон задержки роста у всех исследуемых штаммов холерного вибриона установлены при воздействии тобрамицина, у трех штаммов – к ампициллину, цефотаксиму, у двух – к пefлоксацину, рифампицину, тетрациклину, триметоприму, у одного штамма – к амикацину, стрептомицину, офлоксацину, цефтриаксону, цiproфлоксацину.

Таблица 3

Антибиотикоустойчивость штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы и R-варианта (по результатам определения диско-диффузионным методом)

Территория выделения штамма	Антибактериальные препараты к которым установлена резистентность			
	Ампицилин	Канамицин	Доксициклин	Фуразолидон
г. Иркутск (n=1, р. Ушаковка)	+		+	
г. Хабаровск (n=1, сточные воды КНС-4)		+		+
г. Чита (n=2, оз. Кенон)		+	+(1)	+

* - в скобках указано количество штаммов *V. cholerae*

По результатам молекулярно-генетической идентификации установлено, что два изолята O1 серогруппы и один *V. cholerae* R-варианта не содержат ключевых детерминат патогенности (генотип *ctxA⁻ tcpA⁻*), тогда как в геноме штамма, выделенного на территории Хабаровского края, обнаружен ген токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA*. Ген, детерминирующий синтез O1 антигена, присутствует у всех штаммов холерного вибриона O1

серогруппы. У двух штаммов *V.cholerae* O1 Эль Тор и R-варианта (гг. Хабаровск и Иркутск) выявлен характерный для вида ген *hlyA*, в то время как у забайкальских штаммов вышеобозначенного гена не обнаружено.

Анализ дополнительных генов патогенности холерного вибриона показал, что в геноме всех штаммов холерного вибриона установлено наличие генов *rtxA*, *rtxC* кластера цитотоксического комплекса MARTX. Ген белка наружной мембраны *ompU* присутствует только у изолята из Хабаровского края. При оценке генетической детерминированности персистентного потенциала штаммов выявлено наличие гена синтеза экзополисахарида *vpsR* у всех исследуемых штаммов, генов кластера синтеза маннозочувствительных пилей адгезии (*mshA*, *mshQ*) – в геноме холерных вибрионов O1 серогруппы, в то время как холерный вибрион R-варианта содержит только один из двух генов – *mshA*.

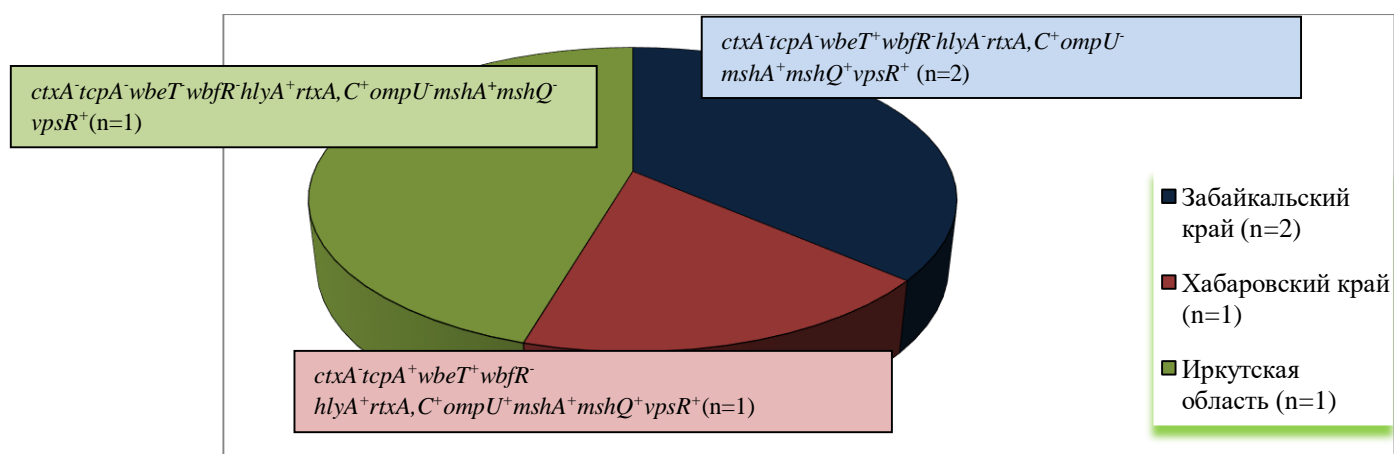


Рисунок 1 – ПЦР-генотипы выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока в 2019 г. штаммов *V. cholerae*

На основании VNTR-типирования по пяти локусам переменных тандемных повторов установлены аллельные профили штаммов *V. cholerae* 2019 г. и проведен их сравнительный анализ с ранее выявленными на территории Сибири и Дальнего Востока изолятами холерного вибриона (рисунок 2). Так, выделенный в г. Иркутске из р. Ушаковка *V.cholerae* R-варианта характеризуется генотипом (VcA17_VcB0_VcC12_VcD3_VcG3),

идентичным с генотипом выделенного из этого водоема в 2018 г. штамма, что может свидетельствовать о сохранении данного клона в водоеме (рисунок 2).

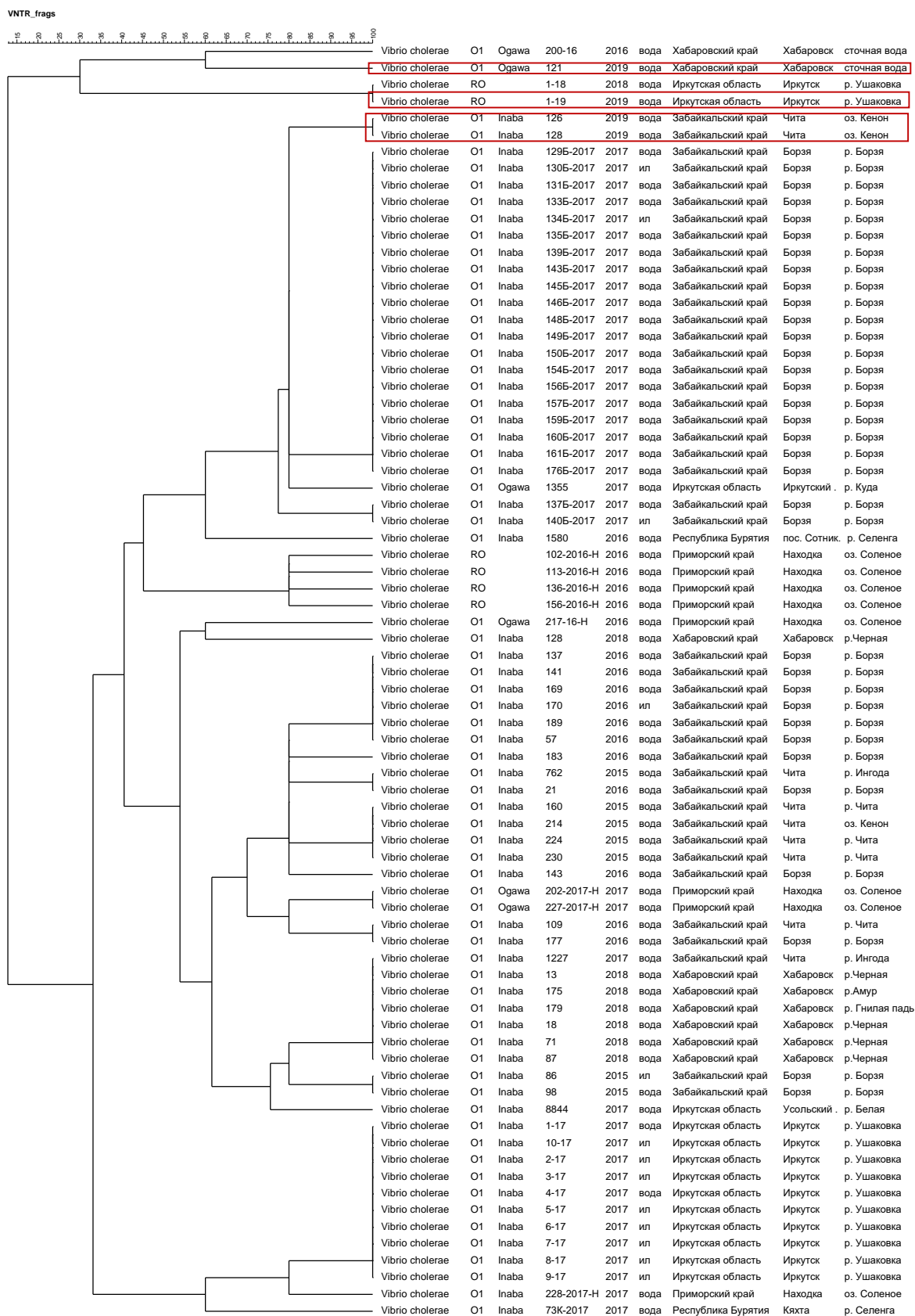


Рисунок 2 – Дендрограмма, построенная на основании структуры переменных тандемных повторов штаммов *V. cholerae* El Tor, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока с 2015 по 2019 г. Штаммы холерного вибриона, изолированные в 2019 г., выделены красной рамкой

Два штамма *V. cholerae* из Забайкальском крае демонстрируют идентичный VNTR-профиль (VcA12_VcB0_VcC10_VcD4_VcG2) и входят в состав кластера, представленного забайкальскими изолятами 2017 г. из р. Борзя. Выделенный в Хабаровском крае из сточных вод КНС-4 изолят *V. cholerae* характеризуется уникальным VNTR-генотипом (VcA17_VcB25_VcC10_VcD7_VcG5), сходным с таковым у штамма *V. cholerae* O1 Эль Тор сероварианта Огава, 2016 г. из сточных вод КНС-3 в г. Хабаровске (VcA17_VcB22_VcC10_VcD6_VcG2).

Таким образом, на территории Сибири и Дальнего Востока в поверхностных водоемах имеет место обнаружение нетоксигенных штаммов холерного вибриона, свидетельствующее о наличии благоприятных условий для сохранения и накопления возбудителя холеры в случае завоза. Ввиду интенсивных миграционных потоков различными видами транспорта риск завоза холеры из неблагополучных по холере стран высок, что определяет прогноз по холере на 2020 г. в Российской Федерации, в т.ч. в Сибири и на Дальнем Востоке. Осуществление профилактических мероприятий в рамках эпидемиологического надзора за холерой, включающих мониторинг поверхностных водоемов на наличие возбудителя холеры, исследование по эпидпоказаниям лиц, вернувшихся из эндемичных и неблагополучных по инфекции стран, в комплексе с информационным обеспечением на всех этапах надзора сохраняет свою актуальность.