

Информационное письмо

«О ситуации по холере в Сибири и на Дальнем Востоке в 2017 г. и прогнозе на 2018 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 современном этапе седьмой пандемии холера, несмотря на усиленные меры борьбы с ней, остается одной из важнейших проблем здравоохранения в мире. Социально-экономические факторы (низкий уровень жизни, недостаток квалифицированной медицинской помощи, нехватка чистой питьевой воды, скученность беженцев в лагерях и т.д.) в отдельных эндемичных странах Африки, Азии, Карибского бассейна в сочетании с природно-климатическими факторами и особенностями биологии возбудителя обеспечивают условия для сохранения холерного вибриона, распространения и закрепления инфекции.

В 2017 г. продолжалась эпидемия холеры в охваченном войной Йемене, где по состоянию на середину декабря зарегистрировано свыше 900 тыс. случаев (983 486) с подозрением на холеру и более 2 тыс. смертей (2218).

На Африканском континенте неблагоприятная ситуация сохраняется в Демократической Республике Конго, Сомали, Танзании, Кении, Замбии. За первые полгода 2017 г. по данным информационного портала ProMED-mail в Сомали выявлено 48 607 случаев холеры в 48 районах, в ДРК умерло свыше 1000 человек. Из Танзании завозы холеры зарегистрированы в Европу – Чешскую Республику.

В Кении с начала прошлого года по конец ноября зафиксировано свыше трех тысяч лабораторно подтвержденных и вероятных случаев холеры с летальностью 1,9 %. При этом эпидемиологическая картина характеризуется постоянной передачей инфекции в затронутых ею населенных пунктах наряду со вспышками в лагерях и закрытых

учреждениях, а также во время мероприятий, сопровождающихся массовым скоплением людей.

В конце 2017 г. объявлена вспышка в столице Замбии г. Лусаке с регистрацией 547 случаев холеры. По данным ВОЗ в стране находятся 60 тысяч беженцев из сопредельных стран, значительная часть которых является выходцами из Демократической Республики Конго и проживает преимущественно в лагере беженцев недалеко от столицы.

В странах Карибского бассейна, в т.ч. в республике Гаити за первые шесть месяцев прошлого года выявлено свыше 7 тыс. больных и 70 смертей. В общей сложности с момента начала эпидемии в октябре 2010 г. по конец 2016 г. сообщено о 795 794 случаях холеры в республике.

Высокий риск импорта возбудителя холеры и возможное накопление его в поверхностных водоемах с развитием острых вспышек обуславливают неблагоприятный прогноз по холере в Российской Федерации. Необходимо отметить возможность опосредованного завоза холеры на территорию страны через благополучные в отношении холеры страны. Так, в конце 2017 – начале 2018 гг. зарегистрировано пять случаев завоза инфекции из Индии в Казахстан, имеющий активные туристические связи с Россией.

Ситуация по холере в субъектах Сибири и Дальнего Востока, как и в целом по России, сопряжена с возможностью завоза возбудителя инфекции из неблагополучных по холере стран. Это свидетельствует о необходимости проведения мероприятий в рамках эпидемиологического надзора за холерой – мониторинга поверхностных водоемов на наличие холерного вибриона и обследования на холеру контингентов в соответствии с требованиями нормативных документов.

В субъектах Сибири и Дальнего Востока в 2017 г. на наличие возбудителя холеры обследовано 8650 человек, из которых 8462 (97,8 %) – больные ОКИ, 14 (0,2 %) – умершие от острой кишечной инфекции и 174 (2 %) – обследованные на вибрионосительство. В одном случае в

Магаданской области из клинического материала от больной ОКИ выделен штамм *V. cholerae* не O1/O139. Больная вернулась с отдыха во Вьетнаме (г. Муйне), где употребляла в пищу фрукты, купалась в море и бассейне.

Таблица 1

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

	Приморский край	Красноярский край	Кемеровская область	Новосибирская область	Иркутская область	Омская область	Республика Алтай	Забайкальский край	Томская область	Хабаровский край	ЕАО	Республика Хакасия	Магаданская область
Количество обследованных лиц, из них:	7904	23	300	3	52	2	3	61	13	171	112	4	2
больные ОКИ	7902		244	1	52	2	3	40		104	108	4	2
умершие от ОКИ			1						13				
обследованные на вибрионосительство	2	23	55	2				21		67	4		

В рамках мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов Сибири и Дальнего Востока в 2017 г. отобрано 18130 пробы, из них воды – 17033, ила – 1097. В Приморском крае, относящемся ко II типу по эпидемическим проявлениям холеры, отобрано и исследовано 2977 проб (16,4 %). В субъектах III типа А и Б подтипов исследовано 55,5 % (10057 проб) и 24,9 % (4532 пробы), соответственно. В регионах подтипа В отобрано 3,1 % (564 пробы) от общего количества проб. Кроме этого, исследованию подвергались пробы нецентрализованного питьевого водоснабжения и хозяйственно-бытовые сточные воды.

В результате из поверхностных водоемов изолировано 39 штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы и 1135 *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп (таблица 2). Штаммы *V. cholerae* O1 El Tor изолированы в Иркутской области (десять

штаммов – из воды и ила р. Ушаковка, г. Иркутск, по одному штамму – из воды рр. Кудя и Белая, Иркутский и Усольский районы, соответственно), в Забайкальском крае (двадцать три штамма – из воды и ила рр. Чита, Ингода и озера Харанор), в Приморском крае (три изолята – из воды озера Соленое) и в Республике Бурятия (один штамм – из р. Селенга). Изоляты *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп выделены из поверхностных водоемов и хозяйственно-бытовых сточных вод в 15 субъектах Сибири и Дальнего Востока, из которых значительная часть (88,6 % – 1006 штаммов) – в субъектах, относящихся III типу А, Б подтипам по эпидемическим проявлениям холеры, 10,6 % (121 штамм) – на территории II типа (Приморский край).

Таблица 2

Количество изолированных штаммов *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп на территориях Сибири и Дальнего Востока в 2017 г.

	Приморский край	Алтайский край	Красноярский край	Кемеровская область	Новосибирская область	Омская область	Иркутская область	Республика Саха (Якутия)	Республика Алтай	Республика Бурятия	Забайкальский край	Хабаровский край	Амурская область	Республика Хакасия
Всего штаммов <i>V. cholerae</i> не O1/ O139, из них:	121	18	195	123	98	86	107	59	1	12	219	85	3	8
в зонах санитарной охраны	11		14	3		42					84	8		
в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод	68		10	10		11	13	3	1	12	43	42		
в местах организованной рекреации	25	18	150		98	33	24	56			37	25	3	8
в местах неорганизованной рекреации			21	110			70				53			
объекты централизованного водоснабжения														
объекты нецентрализованного водоснабжения														
хозяйственно-бытовые											2	10		

сточные воды														
другие объекты	17													

По микробиологическим свойствам выделенные из водоемов на курируемой институтом территории *V. cholerae* O1 серогруппы – грамотрицательные палочки, подвижные, индофенолоксидазоположительны, ферментируют глюкозу в аэробных и анаэробных условиях до кислоты (без газа), ферментируют сахарозу, маннит, не расщепляют лактозу, арабинозу, инозит, декарбоксилируют лизин и орнитин и не обладают дигидролазой аргинина. Исследуемые штаммы агглютинируются до титра холерной диагностической O1 сывороткой и до титра или до 1/2 титра одной из вариантоспецифических: к Инаба сероварианту отнесено 36 штаммов (92,3 %), три культуры *V. cholerae* (7,7 %) – к сероварианту Огава.

Выделенный от больной в Магаданской области *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп обладает вышеперечисленными типичными для холерного вибриона тинкториальными, культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, но не агглютинируется ни одной из холерных диагностических сывороток.

При оценке чувствительности к холерным диагностическим бактериофагам установлено, что большинство штаммов *V. cholerae* O1 El Tor чувствительны к классическому фагу в цельном разведении (n=24) и фагу эльтор в цельном (n=38) и в 10⁻¹ (n=37), 10⁻² (n=28), 10⁻³ (n=3) разведениях. Клинический штамм *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп не лизируется данными фагами.

MALDI-ToF масс-спектрометрическая идентификация выделенных штаммов *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* не O1/O139 по профилю константных белков показала 100 % соответствие таксономической принадлежности с результатами бактериологического анализа: все штаммы отнесены к роду *Vibrio*, виду *V. cholerae* со значениями индекса «max score» от 2,252 до 2,574 (достоверная идентификация до вида).

При определении антибиотикочувствительности диско-диффузионным методом установлена резистентность изолированных вибрионов эльтор к ряду антибактериальных препаратов тетрациклинового ряда, аминогликозидов (таблица 3). Все штаммы проявили устойчивость к канамицину, тридцать шесть – к доксициклину, пять – к стрептомицину, один – к ампициллину. Промежуточное значение чувствительности к рифампицину установлено у 38 штаммов *V. cholerae* El Tor.

Выделенный от больной *V. cholerae* не O1/O139 характеризовался чувствительностью к широкому спектру антибактериальных препаратов, за исключением фуразалидона, к которому отмечена устойчивость.

Таблица 3

**Антибиотикоустойчивость штаммов *V. cholerae* O1 El Tor
(по результатам определения диско-диффузионным методом)**

Территория выделения штамма	Антибактериальные препараты к которым установлена резистентность				
	Ампициллин	Канамицин	Доксициклин	Стрептомицин	Рифампицин
г. Иркутск (n=10, р. Ушаковка)		+ (10)	+ (10)	+ (1) пр (6)	пр (10)
Иркутская область (n=1, р. Куда)	+ (1)	+ (1)			пр (1)
Иркутская область (n=1, р. Белая)		+ (1)	+ (1)	+ (1)	пр (1)
Забайкальский край (n=18, р. Борзя)		+ (18)	+ (16) пр (2)	+ (2) пр (9)	пр (18)
Забайкальский край (n=4, оз. Харанор)		+ (4)	+ (4)	+ (1) пр (3)	пр (4)
Забайкальский край (n=1, р. Ингода)		+ (1)	+ (1)		пр (1)
Приморский край (n=3, оз. Солёное)		+ (3)	+ (3)		+ (1) пр (2)
Республика Бурятия (n=1, р. Селенга)		+ (1)	+ (1)		пр (1)

* - в скобках указано количество штаммов *V. cholerae* O1 El Tor
«пр» - промежуточное значение

По результатам определения эпидемической значимости в ПЦР установлено отсутствие в геноме всех исследованных штаммов *V. cholerae* O1

El Tor и *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп детерминант основных факторов патогенности – холерного токсина *ctxA* и токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA*. Ген, детерминирующий синтез O1 антигена присутствовал у всех 39 штаммов вибриона эльтор и отсутствовал у клинического изолята холерного вибриона не O1/O139 серогруппы.

При выборочном генотипировании *V. cholerae* O1 по комплексу дополнительных факторов патогенности (*rtxA*, *rtxC*, *hlyA*, *hapA*), пандемичности (*tnp0183*, *pro0490*), персистенции (*mshA*, *mshQ*) установлена вариабельность их геномной организации (рисунок 1). Так, фрагмент острова пандемичности VSP-I – *tnp0183* выявлен у одного штамма, выделенного в Иркутской области из р. Куда, и четырех – из р. Борзя и оз. Харанор. Ген основной структурной субъединицы маннозочувствительных гемагглютининов – *mshA* обнаружен в геноме штаммов из Иркутской области (рр. Куда, Белая), Приморья (оз. Соленое) и Забайкальского края (рр. Борзя, Ингода, оз. Харанор)

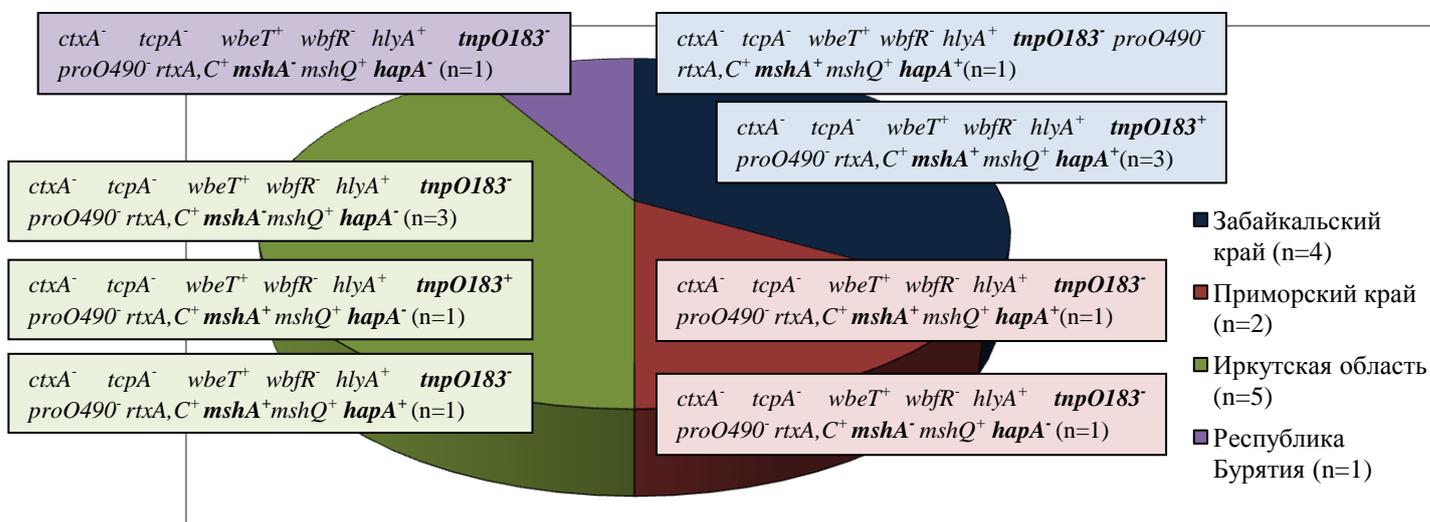


Рисунок 1 - Результат определения генов патогенности, пандемичности и персистенции у выборки штаммов холерного вибриона, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке в 2017 г.

На основании VNTR-типирования по пяти локусам переменных tandemных повторов установлены аллельные профили изолированных из поверхностных водоемов в 2017 г. штаммов *V. cholerae* O1 (рисунок 2). Все

выделенные в г. Иркутске из р. Ушаковки штаммы отнесены к одному VNTR-генотипу VcA18VcB0VcC8VcD4VcG1, который ранее на курируемой территории не встречался, что может указывать на возможный занос данного геноварианта вибриона в водоем. Необходимо отметить, что данные штаммы были изолированы как из проб воды, так и из ила в стационарной точке, выше и ниже по течению реки, а также из ила непосредственно в месте сброса в водоем неочищенных ливневых стоков, обнаруженных при проведении эпидемиологического расследования.

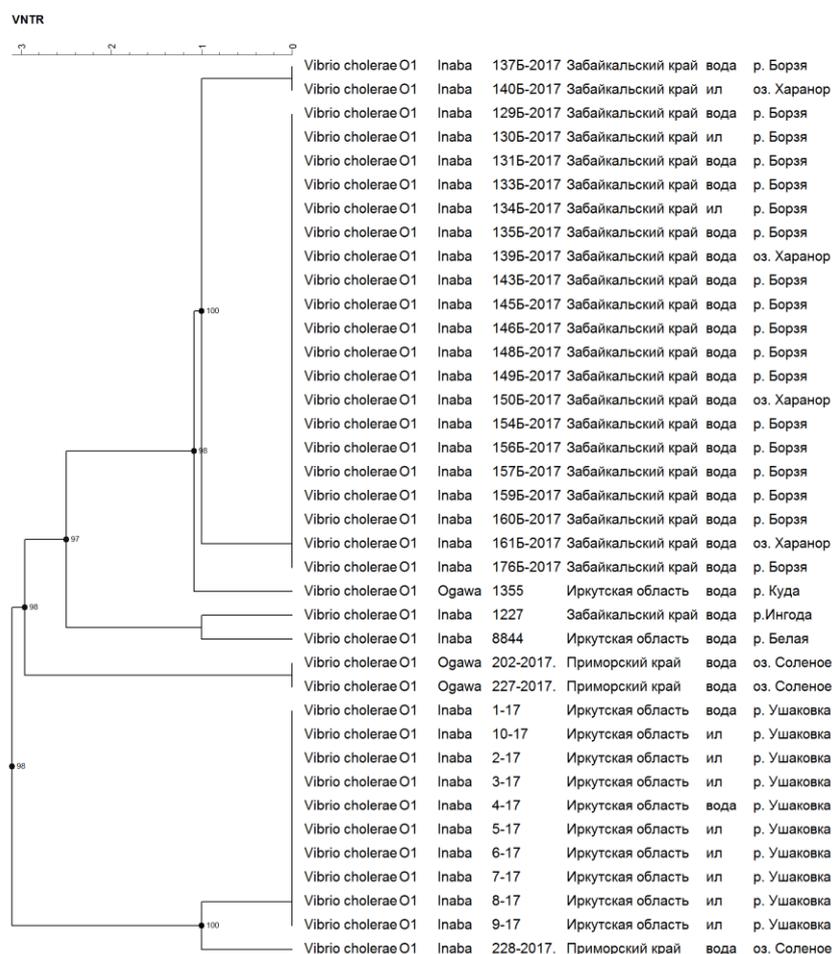


Рисунок 2 - Дендрограмма, построенная на основании структуры переменных тандемных повторов штаммов *V. cholerae eltor*, выделенных территории Сибири и Дальнего Востока в 2017 г.

Большая часть штаммов (20 из 23), выделенных в 2017 г. из поверхностных водоемов Забайкальского края (р. Борзя, оз. Харанор), демонстрируют принадлежность к VNTR-генотипу

VcA12VcB0VcC14VcD4VcG2. Наряду с доминирующим, идентифицирован однолокусный вариант данного генотипа – VcA10VcB0VcC14VcD4VcG2. Он определен у двух штаммов: один выделен из р. Борзя, другой – из о. Харанор. Обнаруженный однократно в р. Ингода штамм *V. cholerae* O1 формирует отдельную ветвь на дендрограмме (рисунок 2) и при сравнительном анализе демонстрирует сходство VNTR-профиля с вибрионами O1 серогруппы, выделенными в Забайкальском крае в 2016 г.

Два штамма *V. cholerae* O1 сероварианта Огава из Приморского края (оз. Соленое) относятся к одному VNTR-генотипу и отличаются от выделенного в этой же точке в 2016 г. изолята на один повтор в локусе VcA и три повтора в локусе VcC. Аллельная формула *V. cholerae* O1 сероварианта Инаба, изолированного в этом же водоеме в 2017 г., отличается от таковой штаммов сероварианта Огава по всем имеющимся в геноме четырем локусам.

При кластерном анализе данных макрорестрикционного картирования установлена идентичность *NotI*-генерируемых паттернов рестрикции геномной ДНК штаммов *V. cholerae* O1 из р. Ушаковки, что согласуется с данными VNTR-анализа (рисунок 3). Штаммы из р. Борзя и оз. Харанор Забайкальского края отнесены к одному генотипу, а выделенный из р. Ингода *V. cholerae* O1, как и при MLVA-типировании, дистанцирован от данной группы изолятов.

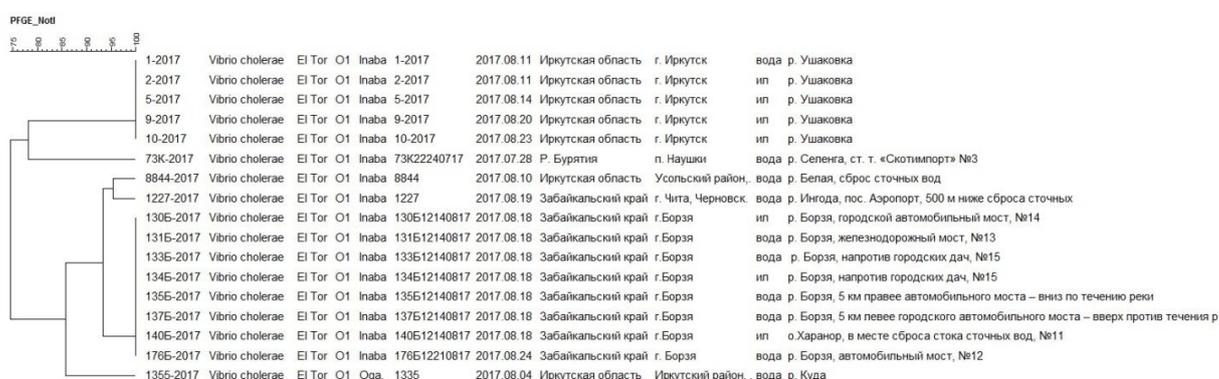


Рисунок 3 - Дендрограмма, построенная на основании сопоставления *NotI*-генерируемого паттерна рестрикции штаммов *V. cholerae* El Tor, выделенных территории Сибири и Дальнего Востока в 2017 г.

Таким образом, сохраняющаяся нестабильная ситуация по холере в мире, высокая активность миграционных потоков, существование угрозы завоза возбудителя на территорию Сибири и Дальнего Востока напрямую из неблагополучных по холере стран или опосредованно, изоляция из поверхностных водоемов эпидемически неопасных штаммов холерного вибриона определяют эпидемиологический прогноз по холере на 2018 г. как неблагоприятный. Это свидетельствует о необходимости готовности специалистов учреждений Роспотребнадзора, учреждений здравоохранения к проведению мероприятий по санитарной охране территории при выявлении больного с подозрением на холеру.