

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

«О ситуации по холере в Сибири и на Дальнем Востоке в 2021 г. и прогнозе на 2022 г.»

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

На современном этапе развития холера остается актуальной особо опасной инфекцией, проявления которой – чрезвычайная ситуация санитарно-эпидемиологического характера. За последние два года отмечается тенденция к снижению заболеваемости холерой в мире. В 2020 г. пандемия холеры совпала с пандемией COVID-19 и, возможно, профилактические мероприятия (соблюдение личной гигиены, социальное дистанцирование, запрет на массовые собрания, улучшение общей гигиены в медицинских учреждениях) снизили возможность передачи возбудителя холеры. В то же время пандемия COVID-19 повлияла на обращаемость граждан за медицинской помощью, что привело к переполненности медицинских центров, сокращению лабораторных мощностей, снижению количества ресурсов для расследования вспышек инфекционных заболеваний (в т.ч. холеры) и увеличению нагрузки на местные и национальные системы здравоохранения – все это могло повлиять на эпидемиологическую обстановку по холере и на выявляемость случаев заболевания.

По официальным данным всего в 2019 г. во всем мире было зарегистрировано 923 037 случаев холеры и 1911 случаев со смертельным исходом от холеры при коэффициенте летальности 0,2 %, включая 61 941 случай заболевания холерой и 886 смертельных случаев от холеры за пределами Йемена. Снижение числа случаев заболевания холерой в мире на 60 %, сообщенное ВОЗ, связано с внедрением стратегии «Ликвидация холеры: дорожная карта до 2030 г.».

За 2020 г. данные по случаям холеры представили ВОЗ 80 стран. На долю Йемена в 2020 г. приходилось 85 % всех случаев, зарегистрированных

ВОЗ во всем мире, остальные 47 608 случаев и 742 смертельных случая были зарегистрированы в странах Азии, Африки.

За прошедший период 2021 г. согласно неофициальным данным Promed-Mail холера регистрировалась в ряде стран Африканского континента, Азии. На Американском континенте по данным как официальных (ВОЗ), так и неофициальных источников (Promed-Mail) в 2020-2021 гг. случаев холеры не зафиксировано. Продолжается эпидемия холеры в Йемене (провинции Ходейда, 26 936 случаев, Сана, 24 593 случая). В странах Азии случаи холеры регистрировались в Бангладеш (6826 случаев, на 04.04.2022), Филиппины (461 случай, на 07.02.2022). В Индии зарегистрировано 390 случаев водянистой диареи. На Африканском континенте холера в 2021 г. регистрировалась в Нигере (861 случай холеры, 12 смертельных случаев, 2874 случаев водянистой диареи), Нигерии (892 случая холеры, 82 смертельных случая, 22 случая водянистой диареи), Того, Мозамбике, Демократической Республике Конго (4671 случай холеры, из них 91 со смертельным исходом), Камеруне (10 случаев холеры, на 27.03.2021), Сомали (780 случаев холеры, 2 смертельных случая). В Мозамбике в результате перемещения населения из-за военного конфликта вызывает беспокойство нехватка безопасной воды, санитарии и медицинских услуг, что несет угрозу здоровью граждан.

На территории России эпидемиологическая обстановка по холере в 2021 г. характеризовалась отсутствием заносных случаев холеры и изоляцией из поверхностных водоемов 67 штаммов нетоксигенного холерного вибриона в Республике Калмыкия (15 штаммов), Ростовской области (10 штаммов), Республике Крым (10 штаммов) и в Приморском крае (21 штамм).

В субъектах Сибири и Дальнего Востока в 2021 г. на наличие возбудителя холеры обследовано 4399 человек, из которых 4230 (96,2 %) – больные ОКИ, 3 (0,1 %) – умершие от острой кишечной инфекции и 166 (3,7 %) – обследованные на вибрионосительство (таблица 1). Всего за период с 2014 г. в рамках эпидемиологического надзора в субъектах Сибири и Дальнего

Востока на холеру по эпидпоказаниям обследовано 66761 человек, из которых 97 % –лица с ОКИ.

Таблица 1

Данные по обследованию на холеру контингентов риска на отдельных территориях Сибири и Дальнего Востока

	Приморский край	Красноярский край	Кемеровская область	Иркутская область	Хабаровский край	Амурская область	ЕАО	Республика Хакасия
Количество обследованных лиц, из них:	4095	7	71	14	62	109	38	3
больные ОКИ	4094		68	14	8	43		
умершие от ОКИ			3					
обследованные на вибрионосительство	1	7			54	66	38	3

В рамках мониторинга поверхностных водоемов Сибири и Дальнего Востока на наличие холерного вибриона за 2021 год было отобрано 14597 проб, из них воды – 13013, ила – 1584. В Приморском крае, относящемся ко II типу территорий по эпидемическим проявлениям холеры, отобрано и исследовано 2978 проб. В субъектах III типа А и Б подтипов исследовано 6590 и 4693 пробы, соответственно. В регионах подтипа В отобрано 336 проб. Кроме этого, исследованию подвергались пробы централизованного и нецентрализованного водоснабжения и хозяйственно-бытовые сточные воды на территориях Алтайского, Хабаровского краев, Республик Бурятия, Тыва.

В результате мониторинга из поверхностных водоемов изолировано двадцать пять штаммов холерного вибриона, все они отнесены к *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор O1 серогруппы. Кроме этого на курируемой институтом территории было выделено 1173 *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп (таблица 2).

Количество изолированных штаммов *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп на территориях Сибири и Дальнего Востока в 2021 г.

	Приморский край	Красноярский край	Кемеровская область	Новосибирская область	Омская область	Иркутская область	Республика Алтай	Республика Саха (Якутия)	Республика Бурятия	Забайкальский край	Хабаровский край	Амурская область	Республика Тыва
Всего штаммов <i>V. cholerae</i> не O1/ O139,	241	186	172	51	88	84	34	62	89	69	55	36	6
из них:													
в зонах санитарной охраны	24	89	21		51	18		2	12		3	3	1
в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод	84		33		10	17	5	2	20	19	44		2
в местах организованной рекреации	90	97	52	51	27	49	7	5	4	4	8	15	3
в местах неорганизованной рекреации	13		66				22	53		34		3	
объекты централизованного водоснабжения												15	
объекты нецентрализованного водоснабжения													
хозяйственно-бытовые сточные воды													
другие объекты	30								53	12			

Из двадцати пяти холерных вибрионов O1 Эль Тор наибольшее количество выделено в Приморском крае из р. Седанка в г. Владивостоке (n=21), два – в Забайкальском крае из проб воды озера Кенон и р. Чита, по одному штамму – из р. Селенга в пос. Наушки Республики Бурятия и р. Черная у пос. Черная речка в Хабаровском крае. Холерные вибрионы не O1/O139 серогрупп выделены на территории 13 субъектов Сибири и Дальнего Востока. Всего из поверхностных водоемов сибирского и дальневосточного регионов в период с 2014 г. по 2021 г. выделено 110 штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы, семь штаммов *V. cholerae* R-варианта и 8453 *V. cholerae* не O1/O139 серогрупп. Холерные вибрионы O1 серогруппы и R-варианта изолированы из проб воды/ила водоемов Алтайского (1), Забайкальского (50), Приморского (33, из

них 4 – R-варианта), Хабаровского (10) краев, Иркутской области (19, из них 3 - R-варианта), Республики Бурятия (4).

По микробиологическим свойствам присланные на идентификацию 23 штамма *V. cholerae* O1 серогруппы из Забайкальского, Приморского, Хабаровского краев обладают типичными свойствами, характерными для микроорганизмов рода *Vibrio* – грамтрицательные подвижные изогнутые палочки, обладают индофенолоксидазной активностью, ферментируют глюкозу в аэробных и анаэробных условиях до кислоты без газа, сахарозу, маннозу, не расщепляют лактозу, арабинозу, инозит, декарбоксилируют лизин и орнитин и не обладают дигидролазой аргинина. Штаммы агглютинируются до титра холерными диагностическими O1 и Инаба сыворотками.

При анализе чувствительности штаммов к холерным диагностическим бактериофагам установлено, что большинство изолятов (n=22) лизируются фагом эльтор в разведениях 10^{-1} , 10^{-3} . К классическому фагу в цельном разведении оказались чувствительны 12 изолятов *V. cholerae*, в разведении 10^{-1} – восемь изолятов, 10^{-2} – три изолята.

MALDI-ToF масс-спектрометрическая идентификация выделенных штаммов *V. cholerae* O1 по профилю константных белков показала 100 % соответствие таксономической принадлежности результатам бактериологического анализа: все штаммы отнесены к роду *Vibrio*, виду *V. cholerae* со значениями индекса «max score» от 2,136 до 2,499.

При определении антибиотикограммы диско-диффузионным методом установлена устойчивость изолированных холерных вибрионов к ряду антибактериальных препаратов, в т.ч. к амикацину (n=2), доксициклину (n=4), ципрофлоксацину (n=1), тетрациклину (n=1), фуразолидону (n=4), левомицетину (n=1), канамицину (n=9) (таблица 3).

**Устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов
V. cholerae O1 серогруппы (по результатам диско-диффузионного метода)**

Территория	Резистентность						
	Амикацин	Канамидин	Доксициклин	Тетрациклин	Левомецетин	Фуразолидон	Ципрофлоксацин
пос. Черная речка, Хабаровский край (n=1, р. Черная)			+			+	
г. Чита, Забайкальский край (n=1, р. Чита)	+	+	+	+		+	+
г. Чита, Забайкальский край (n=1, оз. Кенон)		+	+		+	+	
г. Владивосток, Приморский край (n=19, р. Седанка)		+ (9)*					
пос. Наушки, Республика Бурятия (n=1, р. Селенга)	+	+	+			+	

*- в скобках указано количество штаммов

Определение эпидемической значимости в ПЦР показало, что в геноме всех исследованных штаммов *V. cholerae* O1 отсутствуют гены основных факторов патогенности – холерного токсина *ctxA* и токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA*. Детерминирующий синтез O1 антигена ген *wbeT* присутствует у всех двадцати трех штаммов холерного вибриона O1 серогруппы. Видоспецифический ген *hlyA* выявлен у большинства выделенных изолятов холерного вибриона. Отсутствием указанного гена характеризуются штаммы *V. cholerae* O1 Эль Тор из Республики Бурятия и Забайкальского края.

Результаты молекулярно-генетической идентификации штаммов холерного вибриона

	Генетические мишени холерного вибриона				
	<i>ctxA</i>	<i>tcpA</i>	<i>wbeT</i>	<i>wbrF</i>	<i>hlyA</i>
пос. Черная речка, Хабаровский край (n=1, р.Черная)	-	-	+	-	+
г. Чита, Забайкальский край (n=2, р. Чита, оз. Кенон)	-	-	+	-	-
г. Владивосток, Приморский край (n=19, р. Седанка)	-	-	+	-	+
пос. Наушки, Республика Бурятия (n=1, р. Селенга)	-	-	+	-	-

На основании MLVA-типирования по пяти локусам переменных tandemных повторов установлены аллельные профили изолированных из поверхностных водоемов в 2021 г. штаммов *V. cholerae* и проведен сравнительный анализ с генотипами выделенных ранее штаммов холерного вибриона (рисунок 1). При типировании установлена клональность восемнадцати *V. cholerae* O1 серогруппы, выделенных на территории Приморского края (VcA13VcB0VcC12VcD5VcG0), один изолят отнесен к однолокусному варианту с отличием по VcA. Кроме этого, клональность приморских изолятов подтверждена на основе анализа полных геномов – все изоляты на филогенетическом древе образуют самостоятельную группу в структуре филогенетической линии L4. Холерные вибрионы из Забайкальского края имеют отличные друг от друга MLVA-генотипы, один из которых оказался идентичным генотипу штамма, выделенного в Республике Бурятия. Генотип штамма *V. cholerae*, выделенного из р. Черная речка Хабаровского края, характеризуется как уникальный, сходный с таковым штаммов из Забайкальского края и Республики Бурятия (2020 гг.).

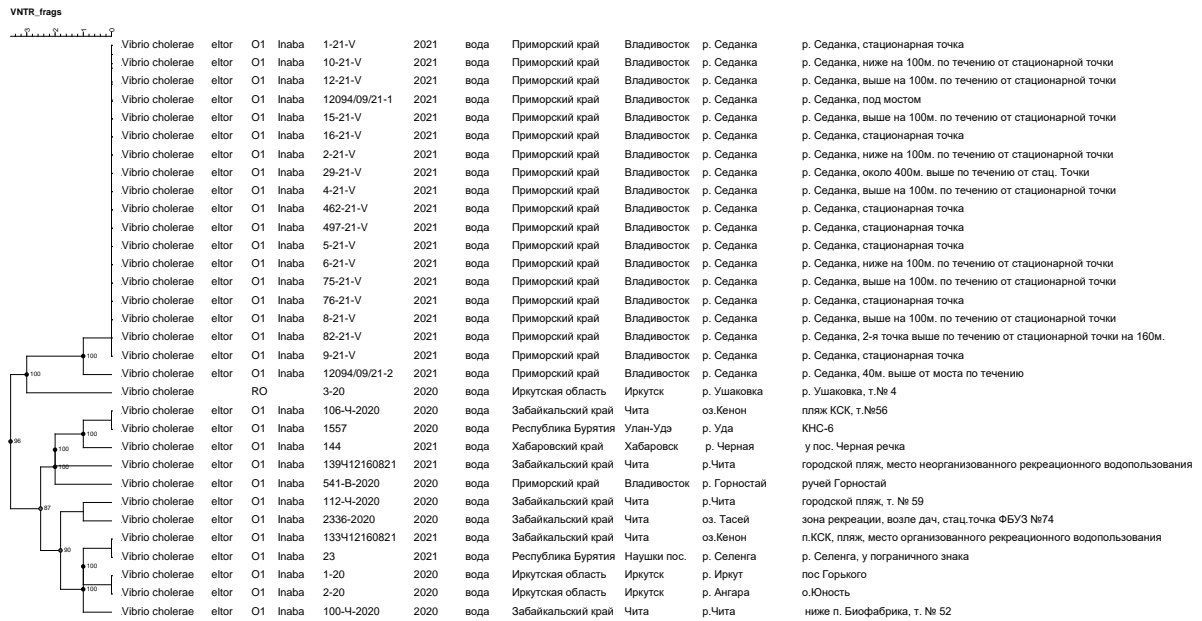


Рисунок 1 – Дендрограмма, построенная на основании структуры вариабельных тандемных повторов штаммов *V. cholerae* Эль Тор, выделенных территории Сибири и Дальнего Востока в 2020, 2021 гг.

При анализе данных макрорестрикционного картирования кластеризация PFGE-профилей выделенных штаммов холерного вибриона, в целом, сходна с MLVA-типированием. Выделенные в 2021 г. в Приморском крае штаммы *V. cholerae* O1 формируют отдельный кластер, включающий три генотипа, каждый из которых представлен тремя – пятью штаммами вибриона.



Рисунок 2 – Дендрограмма, построенная на основании *NotI-SfiI* - генерируемых паттернов рестрикции ДНК штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор и R-варианта, выделенных территории Сибири и Дальнего Востока в 2020 г.

Штамм холерного вибриона, изолированный из р. Черная Хабаровского края, имеет уникальную структуру генома, что согласуется с результатами MLVA-типирования. Забайкальские штаммы *V. cholerae* №№ 133, 139 обладают также уникальными генотипами, на дендрограмме лежат в группе штаммов *V. cholerae* из Забайкальского, Хабаровского краев, Республики Бурятия.

Таким образом, регулярное обнаружение в водных объектах Сибири и Дальнего Востока нетоксигенного холерного вибриона O1 серогруппы и *V. cholerae* не O1/O139 свидетельствует о наличии благоприятных условий для персистенции микроорганизма и потенциальной возможности накопления патогенных вариантов вибриона в случае их завоза на территорию. Такая ситуация, а также наличие рисков завоза холеры из эндемичных регионов определяет необходимость мониторинга вибриофлоры водных объектов в значимых стационарных точках и обследование групп риска, что позволит оперативно оценивать ситуацию по холере на территории и осуществлять необходимый объем профилактических (противоэпидемических) мероприятий.