

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ЭПИДНАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ VII ПАНДЕМИИ

Балахонов С.В. д.м.н. проф, Урбанович Л.Я. д.м.н. ст.н.с., Куликалова Е.С. к.м.н.,
Миронова Л.В. к.м.н., Ганин В.С. к.м.н. ст.н.с., Кожевникова А.С., Басов Е.А.
ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и
Дальнего Востока» Роспотребнадзора, Россия

Аннотация. В статье представлены основные эпидемиологические закономерности холеры на современном этапе VII пандемии с характеристикой возбудителя, направления эпиднадзора за холерой и, в частности, предэпидемической диагностики, выполняемой в рамках микробиологического (в т.ч. молекулярно-генетического) мониторинга, описаны экологические факторы, способствующие адаптации, сохранению и размножению в водоемах холерного вибриона.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae eltor*, водоем, фитопланктон, биопленка, экология, молекулярно-генетический анализ.

Annotation. In this article basic epidemiologic regularities of cholera at the current stage of the Seventh pandemic with the description of the agent are presented. A direction of cholera epidemiological surveillance, in particular, the preepidemic diagnostics within the limits of microbiological (including molecular-genetic) monitoring, the ecological factors promoting adaptation, preservation and reproduction in *Vibrio cholerae* reservoirs are described.

Key words: *Vibrio cholerae eltor*, reservoir, phytoplankton, biofilm, ecology, molecular-genetic analysis.

Текущая VII пандемия холеры характеризуется наибольшей продолжительностью, охватывает значительное количество стран на всех континентах. Заболеваемость определяется наличием в ряде стран эндемичных очагов инфекции, где холера регистрируется на протяжении всего года с сезонными подъемами. Широко распространены трудно диагностируемые стертые клинические формы и вибрионоительство. Прохождение вибрионосителей и больных стертыми и легкими формами через санитарно-карантинный контроль и несвоевременность лабораторной диагностики обеспечивают их существенное значение в качестве скрытых первоисточников инфекции, затрудняя определение наиболее вероятных путей заноса. При этом эпидемически значимые штаммы могут быть занесены в любую страну мира и, при попадании в благоприятные для их размножения участки поверхностных водоемов, вызвать эпидосложнения, обусловленные водным путем передачи.

Ярким примером является ситуация на Гаити, где резко обострилась с октября прошлого года (после январского землетрясения 2010 г.) эпидемическая обстановка по холере (425 тыс. случаев с 6,15 тыс. летальными исходами) [7], а наводнение в прибрежных городах из-за пронесшегося в период эпидемического неблагополучия урагана «Томас» привело к

ухудшению качества воды и санитарных условий в стране [9]. Согласно докладу ООН, к появлению холеры на Гаити привело загрязнение притока р. Артибонит холерным вибрионом южноазиатского типа в результате антропогенного загрязнения [10]. Французский эпидемиолог Рене Перу выдвинул собственную версию, по которой к распространению холеры привел сброс сточных вод в р. Мирбале из лагеря непальского батальона Миссии ООН [13]. Посредством быстрого трансграничного распространения возбудителя на территорию других государств [7] вовлечены в эпидемический процесс страны Центральной и Северной Америки: местные эпидемические осложнения развились в Доминиканской Республике - более 1600 случаев, в Венесуэле - свыше 450; завозные из Гаити случаи - в США и Канаде [9].

По данным ВОЗ, для холеры характерны скачкообразные вспышки с высоким уровнем смертности в бедных странах; инфекция поражает малоимущее и социально неблагополучное население, при этом 1/5 часть населения Земного шара не имеет доступа к безопасным водным ресурсам, еще половина – к надлежащим санитарным условиям [5]. Несмотря на относительно низкие показатели официальной (ВОЗ) заболеваемости холерой в сопредельных с регионом Сибири и Дальнего Востока странах, публикации в зарубежных журналах свидетельствуют о постоянных эпидемических осложнениях в Индии, Бангладеш, Таиланде, Вьетнаме, Китае, Лаосе. Впервые за пятьдесят лет зарегистрирована эпидемия холеры в Папуа-Новой Гвинее (2009 г., 3000 заболевших), в 2011 году сообщается о 84 случаях холеры в провинции Забул, Афганистан, из них 14 со смертельными исходами, более 100 пострадавших – в Малайзии [9]. По данным Донецкой областной санитарно-эпидемиологической станции, в конце августа текущего года ликвидирована вспышка холеры в Украине (32 больных, 22 вибрионосителя), продолжавшаяся с 29 июля по 31 августа [8], причиной которой стала контаминация (в результате сброса неочищенных хозяйственно-бытовых сточных вод г. Мариуполя) воды реки Кальмиус и, далее – Азовского моря токсигенным холерным вибрионом эльтор.

Объективная оценка основных эпидемиологических закономерностей этой инфекции в сопредельных странах Южной, Центральной и Юго-Восточной Азии (где проявляют свою активность промежуточные очаги с циркуляцией вариантов эльтор вибриона с повышенной вирулентностью – так называемые гибридные штаммы, содержащие в своем геноме ген классического холерного токсина), с одной стороны, и знание особенностей эпидемиологического проявления инфекции в регионе, с другой – позволяют оптимизировать систему эпиднадзора и профилактики холеры на территории Сибири и Дальнего Востока.

Если сравнивать с ситуацией в мире, то жители Иркутской области и, в частности, г. Иркутска, имеют явное преимущество в отношении обеспечения качественной водой – водозабор для питьевого водоснабжения осуществляется из Иркутского водохранилища, представляющего собой заполненную речную

долину р. Ангары, единственной реки, вытекающей из оз. Байкал¹. Однако обнаружение нетоксигенного *Vibrio cholerae eltor*, главным образом, в мелких малопроточных водоемах, служащих местами неорганизованного отдыха населения, редкие находки вибриона в санитарных поясах водозаборов и гарантированных зонах рекреации водных объектов в условиях Сибири и Дальнего Востока обосновывают выбор точек забора проб в местах несанкционированного использования водоемов населением для купания, рыболовства и летних видов спорта. При санитарно-гигиеническом надзоре за поверхностными водоемами причины контаминации их холерным вибрионом, как правило, не выявляются, однако места выделения этих штаммов характеризуются показателями, свидетельствующими о загрязнении водоемов хозяйственно-бытовыми и атмосферными стоками ливневой канализации с селитебной территории. Обнаружение микроорганизмов рода *Vibrio* в поверхностных водоемах в период эпидблагополучия по холере на фоне существенных нарушений качества их воды, по-видимому, следует расценивать как индикатор загрязнения водных объектов недостаточно очищенными хозяйственно-бытовыми сточными водами.

Это наблюдение находит подтверждение при определении в местах ежегодного обнаружения вибриона видового состава фитопланктона как благоприятного фактора для развития патогенной микрофлоры и выявления степени антропогенного воздействия на городские водоемы. Фитопланктон р. Ангары в черте г. Иркутска у острова Юность (городской пляж) характеризуется наличием обычных для Байкала видов и отсутствием эвгленовых водорослей, что характеризует экологическую обстановку как вполне благоприятную. В расположенной вблизи Шишиловской протоке (отшнурованной от р. Ангары) фитопланктон представлен видами, характерными для водоемов слабопроточных и загрязненных. В болотно-озерном комплексе, расположенном также в городской черте, основными являются виды, указывающие на высокое содержание в воде органических веществ и свидетельствующие о наибольшей антропогенной нагрузке. Здесь пик развития водорослей совпадает с периодом обнаружения вибрионов и они, возможно, этими микроорганизмами используются в качестве питательного субстрата.

Кроме того персистенцию холерного вибриона в неблагоприятных условиях обеспечивает его способность формировать биопленку на биотических и абиотических поверхностях, являющуюся идеальной нишей для межштаммового обмена генетической информацией с возможностью образования клонов с новыми свойствами [4]. Особую роль в сохранении холерного вибриона в водных экосистемах играют хитиновые покрытия членистоногих, некоторых диатомовых водорослей и грибов [14]. В

¹ Байкал - самое глубокое озеро в мире, максимальная глубина – 1637 м. Объем воды в Байкале около 23 тысяч кубических километров, что составляет 20% мировых и 90% российских запасов пресной воды. Ежегодно экосистема Байкала воспроизводит около 60 кубических километров прозрачной (весной прозрачность байкальской воды – 40 м.), насыщенной кислородом воды [2].

эксперименте подтверждено, что наилучшим субстратом для прикрепления и агломерации холерного вибриона является хитин [3], а дальнейшие исследования показали преимущество прошедшего деминерализацию и депротеинизацию коллоидного хитина, как наиболее доступного для утилизации и адгезии вибрионов. Штаммы *V. cholerae eltor* обладают широким диапазоном способности формировать биопленку со значениями оптической плотности OD_{570} 0,3-4,5, тогда как *V. cholerae* O139 проявляют гораздо меньший размах показателей (крайние их значения при OD_{570} 0,57-1,84). Установлен факт неоднократного обнаружения (в 2006 г. на протяжении 2,5 месяцев) вибриона O139 серогруппы, RO-варианта и не O1/O139 из проб воды и ила р. Ангары (взятых не далее 50 м от выпуска правобережных очистных сооружений), свидетельствующий о сохранении и размножении вибрионов в составе биопленки в иловых отложениях на этапах очистки сточных вод городских очистных сооружений.

Особенности экологии и генетической организации *V. cholerae*, а также гетерогенность популяции микроорганизма в водной среде определяют его способность к эволюционным преобразованиям и становлению новых вариантов, как правило, с измененными в сторону агрессивности биологическими свойствами. Такие варианты вибриона эльтор с генами холерного токсина классического типа, получившие название «атипичные» или «гибридные», появились в эндемичных странах в начале 90-х гг. прошлого столетия. Сохранение, наряду с повышением патогенного потенциала, высоких адаптационных свойств, способствовало распространению атипичных вибрионов эльтор не только в эндемичных странах, но и на свободных от холеры территориях [6, 15]. Показана возможность пандемического распространения вариантов холерного вибриона эльтор из эндемичных очагов путем трансконтинентальной передачи [12].

Нашими исследованиями установлено, что атипичные варианты вибриона эльтор были занесены и на территорию Сибири и Дальнего Востока, поскольку все изолированные при эпидемических осложнениях в регионе в 1990-е годы штаммы несут СТХ профаг с геном субъединицы В холерного токсина классического типа и характеризуются присутствием двух вариантов последовательности гена-репрессора *rstR* – эльтор и классической. При этом следует отметить, что в ряде случаев попадание в объекты окружающей среды атипичных *V. cholerae eltor* в результате заноса привело к их накоплению в благоприятных экологических условиях водоемов и впоследствии обусловило развитие острых местных вспышек холеры (Дальний Восток 1999 г.) [11]. Дополнительный ПЦР-анализ показал, что все штаммы периода эпидосложнений, независимо от времени выделения, характеризуются присутствием в геноме мобильных генетических элементов, определяющих патогенный потенциал (СТХ_φ, VPI-I, VPI-II), пандемичность (VSP-I и VSP-II) и способность к персистенции в окружающей среде (EPI), что обуславливает их способность осваивать новые, до этого свободные от них территории. Нетоксигенные *V. cholerae eltor*, изолированные из поверхностных водоемов в

благополучный по холере период, содержат гены острова персистенции, фрагмент VP1-II (ген *nanH*).

Молекулярное типирование нетоксигенных штаммов из поверхностных водоемов Иркутской области и Забайкальского края с помощью мультилокусного анализа по числу вариабельных tandemных повторов (MLVA) по наиболее полиморфным локусам (VcA, VcB, VcC, VcD, VcG) показало, что характерным для всех является отсутствие локуса VcB. Выявлены группы нетоксигенных штаммов, объединенные местом или годом выделения, имеющие одинаковый MLVA – генотип. В одну группу входят штаммы *V. cholerae eltor* сероварианта Огава, выделявшиеся из связанных между собой р. Ингода и оз. Кенон в г. Чите на протяжении пяти лет (2000-2004 гг.). Другая группа – изоляты *V. cholerae eltor* Инаба (2000-2005 гг.). Идентичный аллельный профиль в группах указывает на циркуляцию в биотопе генетически родственных клонов холерного вибриона. Из пяти штаммов холерного вибриона эльтор, изолированных в 2010 г. в г. Иркутске из р. Сарафановки и озера у храма Михаила Архангела четыре имеют идентичный MLVA-профиль (VcA15, VcB0, VcC10, VcD4, VcG3), генотип пятого штамма различается лишь по локусу VcA на один повтор (VcA14). При этом следует отметить, что аллельный профиль указанной группы штаммов отличается от профиля штаммов, выделенных в этих водоемах в предыдущие годы, что может служить основанием для предположения об имевшей место в 2010 г. контаминации водоема новым клоном вибриона эльтор [1].

Характерное для седьмой пандемии широко распространенное вибриононосительство, наличие стертых клинических форм заболевания, сложности выявления инфицированных лиц в пунктах пропуска через Государственную границу и относительно небольшое количество бактериологически обследуемых на холеру лиц из подлежащих лабораторному обследованию (на некоторых административных территориях от единиц до двух-трех сотен человек в год) не исключают вероятности скрытых заносов инфекции в регион, что с учетом появления измененных вариантов вибриона эльтор (обладающих способностью не только к широкому распространению и закреплению в эндемичных по холере странах, но и к проникновению на территорию благополучных по этой инфекции стран в результате заносов) может привести к развитию острых вспышек холеры, как это имело место на Дальнем Востоке России в 1999 г.

В заключение необходимо отметить, что продолжающаяся с октября 2010 г. эпидемия холеры на о. Гаити, напряженная обстановка по этой инфекции в соседних странах Южной, Юго-Восточной и Центральной Азии, все возрастающие торгово-экономические и туристические связи с ними, рост миграции населения, циркуляция в последнее десятилетие в этих странах нового клона возбудителя, имеющего селективное преимущество и способного вызывать эпидосложнения на новых территориях, неоднократные заносы холеры в регион с формированием местных очагов или без них диктуют необходимость совершенствования системы эпиднадзора на путях высокого

риска заноса инфекции. В такой ситуации первостепенное значение приобретают наряду с мероприятиями, связанными с предэпидемической диагностикой, выполняемой в рамках микробиологического (в т.ч. молекулярно-генетического) мониторинга, вопросы оценки экологического состояния поверхностных водоемов как потенциальных объектов риска.

1. Балахонов С.В., Урбанович Л.Я., Миронова Л.В. и др. Эпидемиологические и молекулярно-генетические аспекты надзора за холерой в Сибири и на Дальнем Востоке / Журнал инфекционной патологии. – 2010. – т.17, № 3. – С. 25-26
2. Галазий Г. И. Байкал в вопросах и ответах. Вост.-Сиб. книжное изд-во, Иркутск. – 1989. – с.120
3. Куликалова Е.С. Урбанович Л.Я. Марамович А.С. и др. Способность холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп к образованию биопленки в эксперименте // Холера и патоген. для человека вибрионы. Матер. пробл. комиссии Координационного научн. совета по сан-эпидемиол. охране территории Российской Федерации. – Ростов-на-Дону, 2009. - Вып. 22 - С. 90-93
4. Смирнова Н.И., Лозовский Ю.В. Биопленка: структура, функция, ПЦР-диагностика // Совр. технологии в диагностике особо опасных болезней: Материалы 4 межгосударств. научно-практ. конф. государств-участников СНГ. – Саратов, 2003. - С.175-177
5. Шэнья К.-Л. Осуществление контроля над холерой: Глобальная картина // Всемирная группа ВОЗ по борьбе с холерой. Доклад на совещании специалистов Роспотребнадзора по вопросам совершенствования эпидемиологического надзора за холерой. – Ростов-на-Дону, 2011 г.
6. Chen C.-H., Shimada T., Elhadi N. et al. Phenotypic and Genotypic Characteristics and Epidemiological Significance of *ctx*⁺ Strains of *Vibrio cholerae* Isolated from Seafood in Malaysia // Applied and Environmental Microbiol. – 2004. – Vol. 70, N 4. – P. 1964-1972
7. <http://new.paho.org/blogs/haiti/> (дата обращения 1.09.2011 г.)
8. <http://www.oblises.donetsk.ua> (дата обращения 5.09.2011 г.)
9. <http://www.promedmail.org/> (дата обращения 5.09.2011 г.)
10. <http://www.un.org/News/dh/infocus/haiti/UN-cholera-report-final.pdf> (дата обращения 5.09.2011 г.)
11. Mironova L. V., Balakhonov S. V., Urbanovich L. Y. et al. The finding of atypical variants of *Vibrio cholerae eltor* in Siberia and the Far Eastern regions of Russian Federation // 9th International Meeting on Microbial Epidemiological Markers (IMMEM-9), September 1 – 4, 2010. Wernigerode, Germany. Abstracts book – 2010, p.71
12. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R. et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic // Nature. – 2011. – doi:10.1038/nature10392. (Published online 24. 08.2011)
13. Piarroux R. Mission report on the cholera epidemic in Haiti // Université de la Méditerranée in Marseille. http://www.ph.ucla.edu/epi/snow/cholera_haiti_piarrouxreport.html (дата обращения 5.09.2011 г.)
14. Pruzzo C., Vezzulli L. et al. Global impact of *Vibrio cholerae* interactions with chitin // Environ. Microbiol. – 2008. – Vol. 10, No. 6. – p. 1400-1410
15. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1 // Trends Microbiol. – 2010. - Vol.18, № 1. – p. 46-54