

Эпидемическая вспышка шигеллеза Зонне в Республике Абхазия в 2013 году

Г.Г. Онищенко¹, Е.Б. Ежлова², Ю.В. Демина², А.Н. Куличенко³,
В.Н. Савельев³ (snipchi@mail.stv.ru), Д.С. Агапитов³, А.С. Волынкина³,
И.В. Кузнецова³, Т.В. Таран³, Д.В. Ефременко³, А.И. Беляева⁴, З.Г. Маршан⁵,
Л.М. Полихова⁵, В.В. Барциц⁵, В.Г. Оробей⁶

¹Российская академия наук, Москва

²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва

³ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь

⁴Санитарно-эпидемиологическая станция, г. Сухум

⁵Министерство здравоохранения Республики Абхазия, г. Сухум

⁶Территориальное управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи

Резюме

Цель работы. Анализ эпидемиологических особенностей вспышки шигеллеза в г. Ткуарчале Республики Абхазия в 2013 году и эффективности мероприятий по ее ликвидации.

Результаты. Установлено, что этиологическим фактором заболевания является *Shigella sonnei* I, II. Реализовался водный путь передачи возбудителя с образованием большого количества очагов инфекции, в том числе семейных. Выявлены отличия в плазмидном профиле выделенного штамма (наличие двух дополнительных плазмид – pBS512 *S. boydii* и pO26-Vir *E. coli* H30), что, по-видимому, обеспечило повышенную вирулентность штамма и, соответственно, позволило вызвать крупную вспышку шигеллеза в г. Ткуарчале Республики Абхазия.

Заключение. Противозидемические мероприятия по локализации и ликвидации эпидемической вспышки, направленные на устранение водного фактора передачи возбудителя с последующим разрывом контактно-бытового пути распространения инфекции, обеспечили постепенное снижение заболеваемости и ликвидацию вспышки.

Ключевые слова: шигеллез Зонне, эпидемическая вспышка, бактериологический анализ, противозидемические мероприятия, ПЦР

Epidemic Outbreak of a Shigellosis Zonne in the Republic Abkhazia in 2013

G.G. Onishhenko¹, E.B. Ezhlova², Yu.V. Demina², A.N. Kulichenko³, V.N. Savel'ev³ (snipchi@mail.stv.ru), D.S. Agapitov³, A.S. Volynkina³, I.V. Kuznetsova³, T.V. Taran³, D.V. Efremenko³, A.I. Belyaeva⁴, Z.G. Marshan⁵, L.M. Polikhova⁵, V.V. Bartsits⁵, V.G. Orobej⁶

¹The Russian Academy of Sciences, Moscow

²Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow

³Federal State Institution of Public Health «Stavropol' Plague Control Research Institute» of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol'

⁴Sanitary-Epidemiological Station of Suhum Administration

⁵Ministry of Health of the Republic of Abkhazia, Suhum

⁶Administration of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Krasnodar Territory in Sochi

Abstract

Work purpose. The analysis of epidemiological features of outbreak of a shigellosis in Tkuarchal in the Republic Abkhazia in 2013 and efficiency of actions for its elimination.

Results. The waterway of transfer of the activator with formation of a large number of the centers of an infection, including family was realized. It is established that an causal factor of a disease is *Shigella sonnei* I, II. Differences in a plasmid profile of the allocated strain (existence of two additional plasmids – pBS512 *S. boydii* and pO26-Vir *E. coli* H30) that, apparently, provided the raised strain pathogenicity, and, respectively, allowed to cause large flash of a shigellosis in Tkuarchal in the Republic Abkhazia.

Conclusion. The anti-epidemic actions for localization and elimination of epidemic outbreak directed on elimination of a water factor of transfer of the activator with the subsequent rupture of a contact and household way of distribution of an infection provided gradual decrease in incidence and elimination of outbreak.

Key words: shigellosis Zonne, epidemic outbreak, bacteriological analysis, anti-epidemic actions, PCR

Введение

В период подготовки и проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в г. Сочи в 2014 году большое внимание уделялось мониторингу санитарно-эпидемиологической обстановки, причем не только в городе и окрестностях, но и на сопредельных территориях. В частности, в Республике Абхазия работа проводилась в рамках плана мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в республике в 2013 – 2014 годах.

Ретроспективно установлено, что с 2008 по 2012 год в республике шел рост заболеваемости острой кишечной инфекцией (ОКИ) – с 163,3 до 799,7 на 100 тыс. населения. При этом заболеваемость шигеллезом носила спорадический характер: 5 – 14 случаев в год (2,1 – 5,8 на 100 тыс. населения в 2008 – 2011 гг.). В 2012 году заболеваемость бактериальной дизентерией увеличилась до 30 случаев (12,5 на 100 тыс. населения), оставаясь спорадической. Среди населения республики в эти годы циркулировали в основном штаммы *S. sonnei*, реже – *S. flexneri* IIa, IIб, IIIa.

В конце ноября 2013 года в г. Ткуарчале Республики Абхазия произошло резкое осложнение эпидемической ситуации по ОКИ. В связи с этим 28 ноября в республику были командированы специалисты СПЭБ Ставропольского противочумного института: эпидемиолог, бактериолог и специалист по молекулярно-генетическим методам исследования – для проведения эпидемиологического расследования, локализации и ликвидации очагов ОКИ.

Цель работы – анализ эпидемиологических особенностей вспышки шигеллеза в г. Ткуарчале и эффективности мероприятий по ее ликвидации.

Материалы и методы

Город Ткуарчал расположен в юго-восточной части республики в горной местности на высоте около 300 метров над уровнем моря. Население – 5304 человека, в том числе 809 детей до 14 лет. В городе имеется пять среднеобразовательных и одно детское дошкольное учреждение; функционируют хлебопекарня, столовая, продуктовый рынок и другие торговые точки.

Нами были использованы: карты-схемы систем водоснабжения и основных водопроводных сетей г. Ткуарчала, данные администрации города о возрастном и профессиональном составе населения, экстренные извещения и журнал регистрации 1260 больных с симптомами ОКИ, проживающих в г. Ткуарчале.

Эпидемиологический анализ проводили с использованием классических методов [1, 2].

Контроль качества воды водопроводов и сети городского водопровода осуществляли в соответствии с СанПиН [3]. Индикацию *S. sonnei* в образцах клинического материала и пробах воды выполняли методом ПЦР с использованием тест-системы «ОКИ-скрин-FL» («ИнтерЛабСервис»,

Москва). Выделение и характеристику штаммов возбудителя шигеллеза проводили в соответствии с [4], определение чувствительности выделенных штаммов шигелл к антибактериальным препаратам происходило в соответствии с [5]. Генетическое типирование штаммов проводили по протоколу, описанному T. Wirth и соавт. [6]. Полногеномное секвенирование выполняли на генетическом анализаторе модели Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM™) с использованием соответствующих фрагментных библиотек (shot-gun). Выделение ДНК штаммов для получения геномных библиотек проводили с использованием набора Charge Switchg DNA Mini Bacteria Kit (Invitrogen, США), используя стандартный протокол, в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Сборку контигов (фрагментов геномной последовательности) и определение их взаимного расположения проводили в Newbler Assembler 2.9 (454 Life Science).

Результаты и обсуждение

По данным эпидемиологического расследования установлено, что единичные случаи ОКИ в г. Ткуарчале начали регистрироваться с 22 ноября 2013 года, массовая регистрация заболеваний, преимущественно у детей, началась с 24 ноября, максимальное число случаев пришлось на 26 – 29 ноября.

Эпидемиологическая обстановка по ОКИ, сложившаяся к 29 ноября, характеризовалась следующими особенностями: в короткий период времени (с 22 по 28 ноября 2013 г.) за медицинской помощью в ЦРБ г. Ткуарчала с симптомами острого гастроэнтероколита (жидкий стул три – пять раз с примесью слизи, режущие боли в животе, тенезмы; у детей – температура до 38 °С и симптомы умеренной общей интоксикации, рвота) обратились 522 человека, в том числе 213 (40,8%) детей в возрасте до 14 лет. Среди детей в возрасте до года заболеваний не было. В анамнезе у большинства взрослых и детей отмечено употребление некипяченой водопроводной воды.

Проведено исследование методом ПЦР 42 проб суспензий фекалий больных. ДНК *Shigella* spp. обнаружена в 39 пробах (92,8%), при бактериологическом исследовании в 21 пробе (50%) выделена *S. sonnei*.

Материал для исследования на шигеллез от взрослых в лабораторию в рассматриваемый период времени не поступал.

Результаты лабораторных исследований показали, что этиологическим агентом заболевания является *S. sonnei*.

Расследование случаев заболеваний выявило, что очаги ОКИ возникли одновременно в разных районах города. При сопоставлении динамики поступления больных в инфекционный стационар с динамикой нестандартных проб питьевой воды был сделан вывод о возможной реализации водного пути передачи инфекции, как правило, не являющегося основным для *S. sonnei*.

Источник водоснабжения г. Ткуарчала – горная река Геджирка. Вода из реки самотеком попадает в выполненный из стали водовод диаметром 500 мм через металлические ковши, расположенные поперек русла. Для грубой очистки воды ковши покрыты перфорированными металлическими листами. Целостность ограждения территории первого пояса санитарной охраны нарушена, имеется свободный доступ к источнику водоснабжения. Водозабор не охраняется. По ходу водовода имеются многочисленные врезки, свищи, вблизи маршрута водовода ведется выпас частного скота. Водоочистные сооружения не функционируют в течение последних 20 лет, хлорирование воды не проводится. Для понижения давления используется бассейн, из которого вода поступает в резервуар объемом 1000 м³. Далее необеззараженная вода тремя водоводами поступает в городскую водопроводную сеть. Мощность водопровода – 200 м³/ч.

Бактериологический контроль качества водопроводной воды в соответствии с [3] начали проводить с 27 ноября. Все 34 пробы, взятые 27 и 30 ноября по всей магистрали водовода и из сети городского водопровода (пробы воды до поступления ее в накопительные резервуары, из резервуаров; воды, вытекающей из резервуаров, из кранов городского водопровода), оказались нестандартными: коли-индекс составлял 240 – 1100 (не должен превышать 3). При бактериологическом исследовании данных проб воды патогенной микрофлоры не обнаружено. При исследовании методом ПЦР в двух пробах обнаружена ДНК *Shigella* spp. – в пробе воды, отобранной 27 ноября с водозаборно-распределительной станции, и в пробе воды, взятой из водопроводного крана в частном домовладении (29 ноября 2013 г.).

Учитывая инкубационный период заболевания (в среднем два-три дня), можно утверждать, что водный фактор заражения населения г. Ткуарчала (питьевая вода) действовал с 18 – 19 по 27 – 28 ноября. За этот период времени возникло 684 очага с одним больным

шигеллезом Зонне, 96 очагов с двумя больными, 20 очагов с тремя, пять очагов с четырьмя, один очаг с пятью и один – с семью больными (табл. 1).

Для пресечения водного пути передачи с 1 декабря была налажена работа хлораторной установки и осуществлено хлорирование воды всей водопроводной системы г. Ткуарчала. Показатель остаточного хлора в самой нижней точке с 5 по 20 декабря составлял от 0,15 до 0,21 мг/л.

Лабораторные исследования проб воды, проведенные после запуска хлораторной установки, показали, что качество питьевой воды улучшилось: из 29 проб воды, взятых 2 декабря, 10 проб соответствовали ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». При исследовании в ПЦР двух проб воды, отобранных 2 декабря из водопроводных кранов в г. Ткуарчале для контроля эффективности хлорирования, выявлена ДНК *Shigella* spp., что может свидетельствовать о детекции инактивированных микробных клеток.

Всего с 24 ноября по 20 декабря с диагнозом «острая дизентерия» зарегистрировано 1260 больных, в том числе 390 детей в возрасте до 14 лет (48,2%) и 870 взрослых (20,5%), проживающих в г. Ткуарчале. Бактериологическим методом диагноз был подтвержден у 1,7% взрослых и 31% детей.

Основные характеристики эпидемической вспышки шигеллеза Зонне в г. Ткуарчале:

- интенсивная (за короткий период времени заболела почти треть населения города);
- с водным путем передачи;
- с формированием семейных очагов; существенную роль играл контактно-бытовой путь распространения возбудителя в пределах семьи;
- текущей и заключительной дезинфекции в очагах шигеллеза не проводилось.

По степени тяжести течения болезнь характеризовалась доминированием стертых, легких, реже – средней тяжести (в основном дети) форм течения болезни. Преобладание легких форм, сложное материально-техническое и санитарное состояние ин-

Таблица 1.
Формирование очагов шигеллеза Зонне в г. Ткуарчале с 24 ноября по 1 декабря 2013 года

Дата регистрации	Количество больных	Очаги шигеллеза с числом больных:						
		1	2	3	4	5	6	7
24.11.13 г.	8	8	–	–	–	–	–	–
25.11.13 г.	5	5	–	–	–	–	–	–
26.11.13 г.	89	76	5	1	–	–	–	–
27.11.13 г.	193	147	18	2	1	–	–	–
28.11.13 г.	227	162	26	3	1	–	–	–
29.11.13 г.	88	62	8	1	–	–	–	1
30.11.13 г.	209	139	21	5	2	1	–	–
01.12.13 г.	149	85	18	8	1	–	–	–
Всего	968	684	96	20	5	1	–	1

фекционного стационара, неукомплектованность медицинским персоналом – все это определило объем медицинской помощи преимущественно в режиме дневного стационара. Этиологическим агентом эпидемической вспышки ОКИ в г. Ткуарчале были *S. sonnei* I и II, обладающие типичными морфологическими и биохимическими свойствами. Выделенные штаммы шигелл Зонне были высокочувствительными к антибактериальным препаратам: левомицетину, ципрофлоксацину, ломефлоксацину, цефотаксиму, цефтриаксону, фуразолидону, а также лизировались диагностическим дизентерийным бактериофагом.

На базе Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора проведено генетическое типирование выделенного штамма *S. sonnei* методом мультилокусного секвенирования-типирования (MLST). Определена нуклеотидная последовательность фрагментов семи хромосомных генов: *adk* (adenylatekinase), *fumC* (fumaratehydratase), *gyrB* (DNAgyrase), *icd* (isocitrate/isopropylmalatedehydrogenase), *mdh* (malatedehydrogenase), *purA* (adenylosuccinatedehydrogenase), *recA* (ATP/GTP binding motif). Для анализа использовали данные из базы *E. coli* MLST, доступной на сайте <http://mlst.ucc.ie>. Установлены аллельные типы исследуемых генов: *adk* – 11, *fumC* – 63, *icd* – 7, *mdh* – 14, *purA* – 7, *recA* – 7, нуклеотидные замены на исследуемых локусах не выявлены. В результате анализа установлен сиквенс-тип исследуемого штамма – ST-152, являющийся одним из распространенных генотипов для *S. sonnei*. Штаммы с ST-152 были выделены в Германии в 2009 году и в Китае в 2009 – 2010 годах. Данные о штаммах шигелл с этим сиквенс-типом, выделенных в России, в используемой базе отсутствовали.

Для полной генетической характеристики выделенного штамма выполнено полногеномное секвенирование. Геном исследованного штамма *S. sonnei* представлен 410 контигами общим размером 4 471 773 пар нуклеотидов (п.н.). Сравнение контигов с базой нуклеотидных последовательностей NT проводили с помощью ресурса BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Анализ показал высокую степень сходства полученных контигов с последовательностью хромосомы и плазмид А, В, С и Е штаммов *S. sonnei* 53G и *S. sonnei* Ss046. Однако были выявлены контиги, обладающие высокой степенью сходства с плазмидами других штаммов. Контиг 000006 (длина 5114 п.н.) представлял собой полноразмерную последовательность плазмиды рBS512 штамма *S. boydii*. Кроме того, выявлено девять контигов с высоким процентом сходства с последовательностью плазмиды рO26-Vir штамма *E. coli* (H30).

Эпидемическая вспышка шигеллеза Зонне в г. Ткуарчале формировалась за счет активизации водного пути передачи возбудителя и из-за потребления населением недоброкачественной водопроводной воды. После устранения водного фактора передача возбудителя осуществлялась контактно-бытовым путем с образованием семейных очагов, что придало эпидемии затяжной характер (более 25 дней). Чувствительность шигелл Зонне к дизентерийному бактериофагу стала основанием для фагирования с целью санации больных и контактных в семейных очагах и лиц декретированных групп населения города (работники сферы образования, пищевой и перерабатывающей промышленности, связанные с подачей воды населению, с ремонтными работами на водопроводе, медицинские работники).

Выводы

1. Причиной вспышки шигеллеза было бактериальное загрязнение водозабора на р. Геджирке, являющейся источником питьевого водоснабжения для города, что подтверждается выявлением ДНК *S. sonnei* в пробе воды, отобранной из водозабора, а также нарушениями в системе водоподготовки, режима охраны водоисточника, отсутствием системы удаления сточных вод.
2. Анализ результатов секвенирования штамма *S. sonnei*, выделенного во время вспышки, показал высокую степень сходства нуклеотидной последовательности хромосомной ДНК с последовательностями ранее секвенированных штаммов, представленных в базе данных GeneBank, в связи с чем результаты MLST-типирования, основанного на секвенировании участков хромосомных генов, не позволили выявить значительных отличий данного штамма от ранее описанных. Полногеномное секвенирование продемонстрировало значительные отличия в плазмидном профиле выделенного штамма – наличие плазмид рBS512 *S. boydii* и рO26-Vir *E. coli* H30, что, по-видимому, обеспечило повышенную вирулентность штамма и, соответственно, позволило вызвать крупную вспышку шигеллеза в г. Ткуарчале.
3. Противоэпидемические мероприятия по локализации и ликвидации эпидемической вспышки шигеллеза Зонне, в основе которых было устранение водного фактора передачи возбудителя с последующим разрывом контактно-бытового пути распространения инфекции непосредственно в возникших очагах, обеспечили снижение заболеваемости и ликвидацию вспышки. ■

Литература

1. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. Москва: Медицина; 1989.
2. Черкасский Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии. Москва: Медицина; 2001.
3. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения. СанПиН 2.1.4.1074-01 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 7 апреля 2009 г. № 20).
4. Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями. Москва; 1984.
5. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 2.4.1890-04. Москва; 2004.

6. Wirth T., Falush D., Lan R., Colles F., Mensa P., Wieler L.H. et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Molecular Microbiology*. 2006; 60 (5): 1136 – 1151.

References

1. Beljakov V.D., Jafaev R.H. *Epidemiology*. Moscow: Medicina; 1989 (in Russian).
2. Cherkassky B.L. *Guide to general epidemiology*. Moscow: Medicina; 2001 (in Russian).
3. Drinking water. Hygienic requirements to quality of water of the centralized systems of drinking water supply. Quality control. Hygienic requirements to safety of hot water supply. SanPiN 2.1.4.1074-01 (Are approved the resolution of the Chief state health officer of the Russian Federation of April 7, 2009 № 20) (in Russian).
4. Methodical instructions on microbiological diagnosis of the diseases caused by enterobakteriya. Moscow; 1984 (in Russian).
5. Determination of sensitivity to antibacterial preparations. Methodical instructions 2.4.1890-04. Moscow; 2004 (in Russian).
6. Wirth T., Falush D., Lan R., Colles F., Mensa P., Wieler L.H. et al. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Molecular Microbiology*. 2006; 60 (5): 1136 – 1151.

Эпидемия гриппа в России в сезон 2013 – 2014 годов: этиология, антигенные свойства гемагглютиниона и активность нейраминидазы вирусов

Т.Г. Лобова (lobova@influenza.spb.ru), Д.М. Даниленко, Н.И. Коновалова,
Е.М. Еропкина, С.М. Щеканова, П.А. Петрова, Е.Г. Корнилова, М.Ю. Еропкин

ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург

Резюме

Изучена структура популяции вирусов гриппа, циркулировавших в России в эпидемический сезон 2013 – 2014 годов. Установлено, что среди 495 изолятов на долю A(H1N1)pdm09 приходилось 46,3%, A(H3N2) – 44,2%, гриппа B – 9,5%, причем среди последних преобладали штаммы Ямагатской разновидности. На основании данных реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и метода трехмерной антигенной картографии проведен сравнительный анализ антигенных свойств поверхностного белка гемагглютиниона вирусов гриппа, циркулировавших в России, и эталонных штаммов. Установлено соответствие вирусов гриппа, циркулировавших в РФ, рекомендованному Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) штаммовому составу противогриппозной вакцины на сезон 2013 – 2014 годов.

Количественный анализ активности второго поверхностного белка нейраминидазы для 203 вирусов гриппа A различных антигенных формул, лет и источников выделения показал наиболее высокую активность фермента у вирусов гриппа птиц A(H5N1). В целом активность нейраминидазы подтипа N1 была выше, чем N2, однако отмечен большой индивидуальный разброс ферментативной активности в пределах каждого подтипа.

Ключевые слова: эпидемия, вирусы гриппа, антигенный анализ, РТГА, антигенная картография, MUNANA-тест

The Flu Epidemic in Russia in the 2013 – 2014 Season: Etiology, Antigenic Properties of Hemagglutinin and Neuraminidase Activity

T.G. Lobova (lobova@influenza.spb.ru), D.M. Danilenko, N.I. Konovalova, E.M. Yeropkina, S.M. Shchekanova, P.A. Petrova, E.G. Kornilova, M.Yu. Yeropkin

The Federal State Budgetary Institution «Research Influenza Institute» of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Petersburg

Abstract

The present study describes etiological structure of population of influenza viruses that circulated in Russian Federation in epidemic season 2013 – 2014. It was shown that from 495 isolates influenza A(H1N1)pdm09 viruses comprise 46.3%, influenza A(H3N2) – 44.2% and influenza B – 9.5% with domination of Yamagata lineage. Comparative study of antigenic properties of major influenza surface protein hemagglutinin was conducted based on the results of HI test and three-dimensional antigenic cartography. The correspondence between WHO recommended strains for vaccine composition 2013 – 2014 and Russian strains of the analyzed period was shown.

Quantitative analysis of enzyme activity of the second surface influenza protein – neuraminidase – for 203 influenza strains differing in year of isolation, antigenic composition and host specificity showed that the highest activity was registered for the neuraminidase of A(H5N1) influenza viruses. In general, the activity of N1 neuraminidase was higher than that of N2 subtype, but sufficient individual variation of NA activity within the subtype could be registered.

Key words: epidemic, influenza viruses, antigenic analysis, HI-test, antigenic cartography, MUNANA-test