

## MLVA-типирование штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, выделенных на территории Забайкальского края в период седьмой пандемии

А.С. Пономарева<sup>1</sup> (askozh@mail.ru), Л.В. Миронова<sup>1</sup>, Ж.Ю. Хунхеева<sup>1</sup>,  
А.Б. Мошкин<sup>2</sup>, С.В. Балахонов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт»  
Роспотребнадзора

<sup>2</sup> ФКУЗ «Читинская противочумная станция» Роспотребнадзора

### Резюме

Проведено MLVA-типирование (мультилокусный анализ переменных тандемных повторов – MLVA – multiple locus variable-number tandem repeats analysis) по 5 локусам переменных тандемных повторов 135 штаммов *Vibrio cholerae* El Tor, выделенных с 1973 по 2016 год на территории Забайкальского края. Определено, что исследуемые штаммы относятся к 56 MLVA генотипам, входящим в состав четырех кластерных комплексов. В основании каждого кластера лежат MLVA-типы, имеющие наибольшее число однолокусных вариантов (SLV, single locus variant). Анализ закономерностей распространения показал, что первичное появление штаммов с новыми не характерными для территории генотипами в 70-е, 80-е, 90-е годы прошлого столетия происходит в сточных водах с последующим обнаружением данных генотипов, в основном, в р. Ингода и оз. Кенон. Начиная с 2005 года на территории Забайкальского края доминируют штаммы, впервые выделенные из р. Борзя и оз. Харанор и обнаруживаемые в разное время в этих водоемах и реках Ингода, Кенон, Аргунь. Обнаружение групп изолятов с идентичным или сходным MLVA-профилем, входящих в кластерные комплексы, свидетельствует об их длительном сохранении в отдельных экологических нишах, при этом в процессе адаптации аллельные профили штаммов подвергаются незначительной трансформации по наиболее переменным локусам. Идентификация *V. cholerae* El Tor с существенно отличающейся от доминирующих клонов структурой локусов переменных тандемных повторов может служить доказательством их заносного происхождения.

**Ключевые слова:** *Vibrio cholerae*, эпидемиологическое благополучие, аллельный профиль, популяционная структура, MLVA-типирование

### MLVA-typing of *Vibrio cholerae* El Tor Strains Isolated in Transbaikal Territory during the Seventh Pandemic

A.S. Ponomareva<sup>1</sup> (askozh@mail.ru), L.V. Mironova<sup>1</sup>, Zh.Yu. Khunkheeva<sup>1</sup>, A.B. Moshkin<sup>2</sup>, S.V. Balakhonov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Budgetary Healthcare Facility «Irkutsk Antiplague Research Institute» of Federal Service of Surveillance on Consumer' Rights Protection and Human Wellbeing

<sup>2</sup> Federal Budgetary Healthcare Facility «Chita Antiplague Station» of Federal Service of Surveillance on Consumer' Rights Protection and Human Wellbeing

### Abstract

Cholera remains a topical infection in the world, which determines the high risk of importation of the pathogen on the territory of the Russian Federation. MLVA-typing of 135 strains at 5 tandem repeats loci was carried out in order to study the clonal-population structure of the isolated from 1973 to 2016 on the Transbaikal territory *V. cholerae*. Analysis of the distribution patterns showed that the primary emergence of strains with new atypical for the territory genotypes in 1970s, 1980s, 1990s, occurred in sewage waters with the subsequent detection of the given genotypes generally in Ingoda river and Kenon lake. The strains firstly isolated from Borzya river and Haranor lake and found out at various times in Ingoda river and Kenon lake, Chita, Argun rivers, Haranor lake and Borzya river have been dominating since 2005 in Transbaikal territory. Finding groups of isolates with identical or similar MLVA-profile appeared in cluster complexes evidence of their long-term preservation in specific ecological niches, strains' allelic profiles undergo minor transformation on the most variable loci in the process of adaptation. Identification of *V. cholerae* El Tor that variable tandem repeat loci structure materially differs from those of the dominant clones may serve as proof of their invasive origin.

**Key words:** *vibrio cholerae*, epidemiological well-being, allelic profile, population structure, MLVA-typing.

### Введение

Холера остается актуальной инфекцией в мире, что связано с существованием истинных и вторичных эндемичных очагов в странах Азии, Африки, Америки. Интенсивная миграция населения, локальные военные конфликты, развитие туризма способствуют выносу холеры из эндемичных стран

с развитием в ряде случаев беспрецедентных по масштабам эпидемических осложнений на ранее свободных от холеры территориях [1].

Забайкальский край находится на стыке миграционных потоков Азиатско-Тихоокеанской миграционной системы, на юге граничит с Монголией и Китаем, на севере – с Иркутской областью

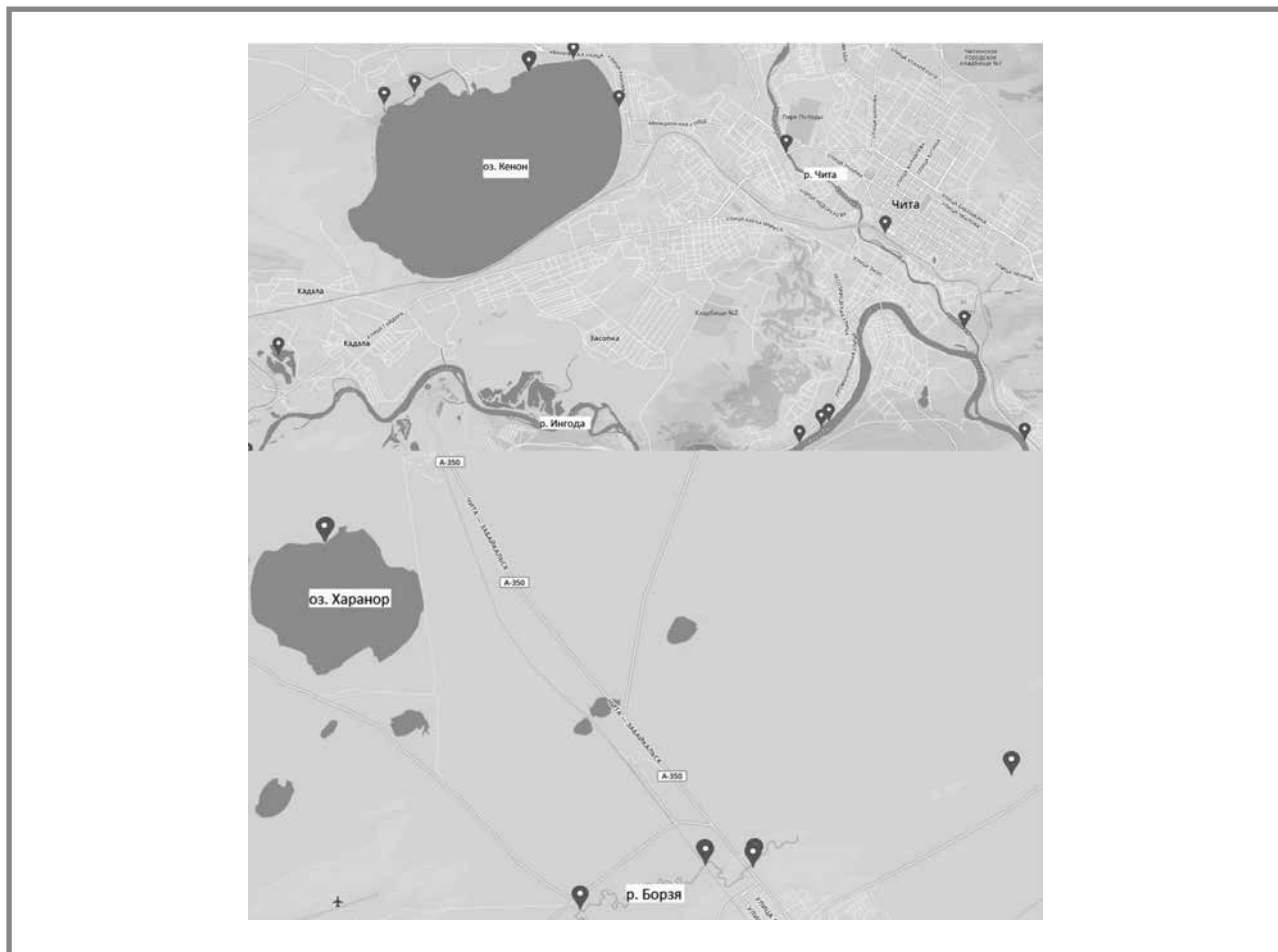
и Республикой Саха (Якутия), на западе – с Республикой Бурятия, на востоке – с Амурской областью [2]. Учитывая пограничное положение региона, существует риск завоза холеры, что определяет актуальность мониторинга вибриофлоры водных экосистем края, направленного на получение оперативной информации о присутствии в них опасного патогена. При этом молекулярно-генетическое типирование с одновременным определением эпидзначимости изолированных штаммов имеет ключевое значение для определения источника и направлений распространения патогена на территории и принятия своевременных мер ограничительного характера. Метод мультилокусного анализа переменных tandemных повторов (MLVA), широко применяемый в молекулярной эпидемиологии и филогенетическом анализе, способен решить ряд задач, заключающихся в изучении генетического разнообразия изолятов, их клоновой принадлежности и географической приуроченности и является одним из часто применяемых подходов к молекулярному типированию микроорганизмов [3 – 8]. Метод показал высокую эффективность при исследовании штаммов, выделенных в разные годы седьмой пандемии на территории РФ, с определением источника и путей распространения [9 – 12].

**Цель работы** – изучение клонально-популяционной структурированности *V. cholerae* El Tor в водоемах Забайкальского края.

#### Материалы и методы

Исследовано 135 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, изолированных на территории Забайкальского края с 1973 по 2016 год (рис. 1), среди которых 116 изолятов относятся к сероварианту Инаба, 17 – Огава, 1 – Гикошима, так же включен один штамм *V. cholerae* R-варианта. Все штаммы хранились в МЖК Иркутского научно-исследовательского противочумного института в лиофилизированном состоянии. Дополнительно исследовано 15 штаммов, хранящихся на полужидком агаре с ежегодным пересевом. Все изоляты охарактеризованы по комплексу культурально-морфологических и серологических свойств. Генетическая паспортизация штаммов *V. cholerae* El Tor проведена по генам основных факторов патогенности (*ctxA*, *tcpA*), генам принадлежности к серогруппе (*wbeT*, *wbf*) и видоспецифическим генам (*hlyA*, *toxR*), наличию конъюгативного элемента SXT (sulfamethoxazole и trimethoprim), ассоциированного с резистентностью к некоторым антибиотикам и, в том числе, к сульфаметоксазолу и триметоприму; часть штаммов ( $n = 40$ ) исследована на наличие

Рисунок 1.



генов островов пандемичности (*tnp0183*, *pro490*) [13, 14]. Мишенями для MLVA-типирования выбраны пять локусов варибельных tandemных повторов VcA(VCA0171), VcB(VCA0283), VcC(VC0147), VcD(VC0437), VcG(VC1650), содержащих от 6 до 9 нуклеотидов. Анализируемые повторы локализованы на обеих хромосомах референсного штамма *V. cholerae* El Tor N 16961 (табл. 1)

Амплификация проведена со специфическими праймерами [15], меченными флюоресцентными красителями (FAM, R6G, TAMRA, ROX), по следующей программе: стартовая денатурация 95 °C – 2 мин; 30 циклов – денатурация 94 °C – 35 сек, отжиг праймеров 56 – 61 °C – 25 сек, элонгация 72 °C – 35 сек. Ампликоны разделены путем капиллярного электрофореза на ДНК анализаторе ABIPrism<sup>®</sup> 3130 GeneticAnalyzer (Applied Biosystems Inc, США). Размеры ампликонов определены в программе Gene Mapper v.3.0. Число tandemных повторов исследуемых штаммов рассчитано по формуле, включающей размер ампликона и определенное путем прямого секвенирования числа повторов маркерного штамма:

$$R = R_c + (M_x - M_c) / u,$$

где  $R_c$  – число повторов маркерного контрольного штамма;  $M_x$  – размер ампликона исследуемого штамма;  $M_c$  – размер ампликона маркерного (контрольного) штамма;  $u$  – число нуклеотидов в повторе. Число повторов маркерного штамма (*V. cholerae* И-1300 El Tor, Южно-Сахалинск, 1999 г.) по исследуемым локусам VcA\_VcB\_VcC\_VcD\_VcG составило, соответственно, 7\_21\_9\_7\_8.

Биоинформационный анализ результатов MLVA-типирования осуществляли с помощью программного обеспечения Bionumerics, v. 6.01 (AppliedMaths, Бельгия) по алгоритмам UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic

Mean, метод попарного внутригруппового невзвешенного среднего) и MST (Minimum Spanning Tree, минимальное остовное дерево) для категориальных данных. Для численной оценки варибельности локусов использовался индекс аллельного полиморфизма ( $h$ ) [16]. Оценку дискриминирующей способности метода проводили по индексу Хантера-Гастона (HGDI) [6].

### Результаты и обсуждение

В Забайкальском крае мониторинг вибриофлоры водных объектов проводится с 40-х годов прошлого столетия. Стационарные точки отбора проб расположены на реках Ингода, Чита, Борзя, Онон, Турга, Киранка, Кяхтинка, Чикой, Газимур, Урулунгуй, пограничных реках Аргунь, озерах Кенон, Харанор, Бугутур, Цаган-Нор, Арей, Арахлей, Тасей, Ножей, Бальзино, Халанда, ключе Кулажда [17]. В настоящее время насчитывается 58 стационарных точек отбора проб воды и ила на наличие холерного вибриона из поверхностных водоёмов Забайкальского края (см. рис. 1).

Выделение штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, начиная с 1973 года за редким исключением происходит ежегодно. Изолировано более четырехсот штаммов, из них 84% относятся к серовару Инаба, 14% – Огава, 2% – Гикошима, кроме того выделено 5 штаммов R-варианта.

Культуры имеют свойства, характерные для нетоксигенных штаммов *V. cholerae* El Tor. Каждый изолят содержит один или два видоспецифических гена (*hlyA* или *toxR*). Ген принадлежности к O1 серогруппе (*wbeT*) обнаружен у 132 штаммов. Все исследованные вибрионы не содержат основных детерминант патогенности (гены *ctxA*, *tcpA*). Открытым остается вопрос о происхождении данных штаммов и их клоновой взаимосвязи.

Анализ генотипа штаммов по числу повторов в каждом из пяти локусов варибельных tandem-

**Таблица 1.**  
**Структура варибельных tandemных повторов и последовательности праймеров**

Исследуемый локус	Флюоресцентная метка	Нуклеотидная последовательность повтора	Позиция в геноме	Праймер	Последовательности праймеров
VcA (VCA0171) VC4	FAM	TGCTGT	187459-188196	VcAF	TCTTCTTGGCCTTCTTGACC
				VcAR	TCATCAAGATGCACGACACA
VcB (VCA0283) LAV6	R6G	ACCAGA	303639-304322	VcBF	GCCTCCTCAGAAGTTGAGAATC
				VcB R	CCGATGAACCTCTCTGAACCTGG
VcC (VC0147) VC1	R6G	AACAGA	136806-137459	VcC F	CGGAAACTGCGTTAACAGAAA
				VcC R	CTTTAAGCGCGCAAAGA AAC
VcD (VC0437) VC9	ROX	GACCCTA	466811-467459	VcD F	ATTTAA AAGCCCTGCCGTTTG
				VcD R	GAACGTAGATCCCAGAAAACAATC
VcG (VC1650) VC5	ROX	GATAATCCA	1778210-1778872	VcG F	AATTACTGGGTGAACGCTATAACA
				VcG R	CTAACTGAGTGACCGCATTGG

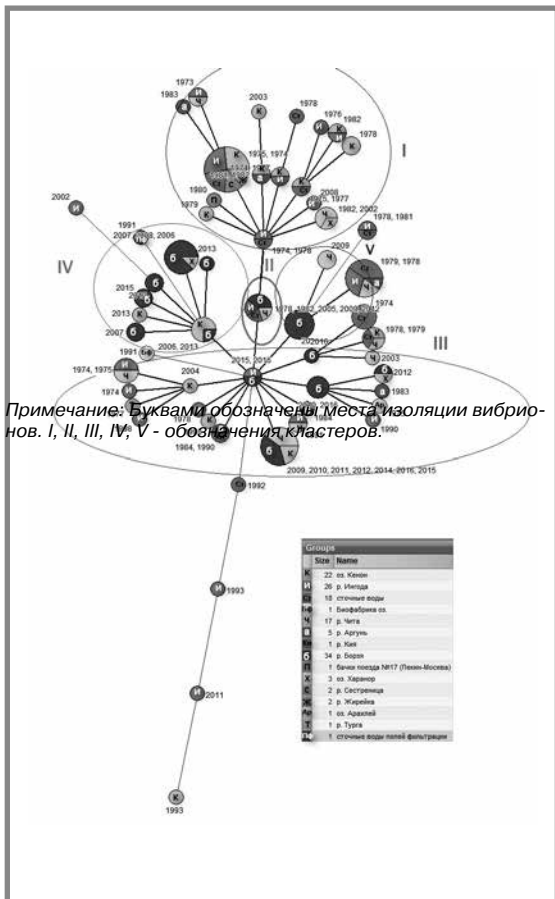
ных повторов позволил сформировать MLVA-профиль, включающий от 0 до 27 повторов по каждому локусу. Индексы аллельного разнообразия Симпсона (Simpson's Index of Diversity) для исследуемой выборки составили для локуса VcA – 0,9092, VcB – 0, VcC – 0,8699, VcD – 0,0998, VcG – 0,0516. Таким образом, у исследуемых штаммов *V. cholerae* максимально вариабельны локусы VcA и VcC и менее вариабельны локусы VcD, VcG, что согласуется с данными исследователей, объясняющих меньшую вариабельность локусов VcD, VcG расположением на большей, эволюционно более древней, хромосоме, но вместе с тем, локус VcC, находящийся также на большой хромосоме, показал высокую вариабельность, практически наравне с локусом VcA, что связано с принадлежностью штаммов к экологическим изолятам, проявляющим, как правило, высокую вариабельность по локусам VcA и VcC [18, 19]. Ни один исследуемый штамм не содержит повторов по локусу VcB, характерному в основном для эпидемически опасных (*ctx+*, *tcpA+*) и потенциально

эпидемически опасных (*ctx+*, *tcpA+*) штаммов [20]. Дискриминирующая способность метода MLVA для всей выборки штаммов высокая – индекс Хантера-Гастона составил 0,988.

Кластерный анализ 135 штаммов *V. cholerae* El Tor с помощью алгоритма UPGMA выявил 56 MLVA-генотипов, 28 из них представлены одним изолятом, 28 – включают от двух до 15 штаммов. Наиболее крупные группы с идентичными MLVA-генотипами образованы штаммами, выделенными в 1974 – 1975 годах из рек Ингода, Жирейка, Сестреница и оз. Кенон (n = 15); в 1978 – 1979 годах – из рек Аргунь, Ингода, Чита, а также сточных вод (n = 10); в 2006 – 2008 годах – из р. Борзя и оз. Харанор (n = 8); в 2009 – 2016 годах – из рек Чита, Борзя и оз. Кенон (n = 10), в 2016 году – из р. Борзя (n = 6).

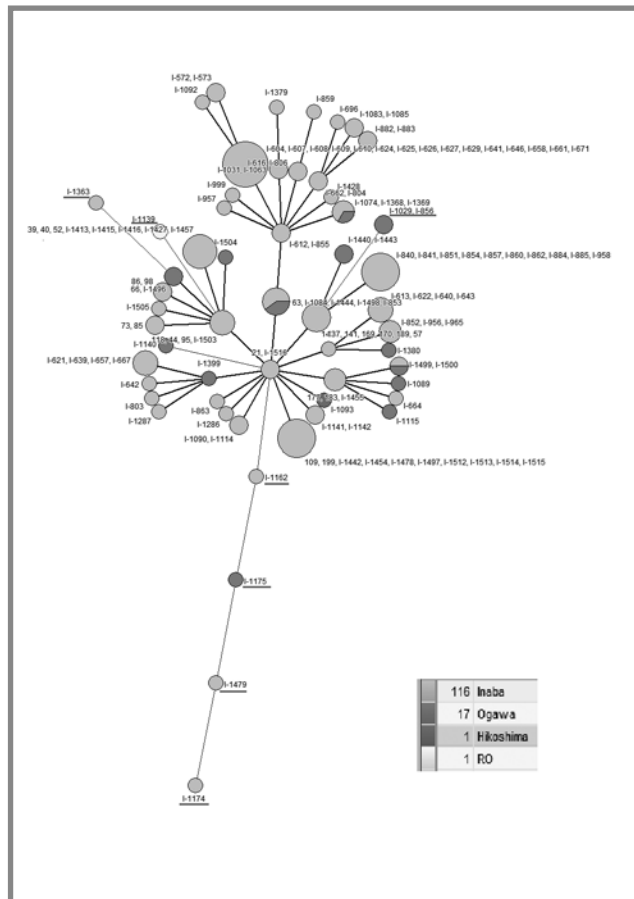
На древе, построенном с помощью MST алгоритма, MLVA-генотипы распределены на кластерные комплексы (рис. 2, 3). В основании комплексов находятся генотипы штаммов, имеющие наибольшее число однолокусных вариантов (SLV).

**Рисунок 2.** Дендрограмма, построенная по алгоритму MST (minimum spanning tree) с использованием программы BioNumerics, v 6.01, на основе MLVA – типирования по пяти локусам tandemных повторов



Примечание: Буквами обозначены места изоляции вибрионов. I, II, III, IV, V – обозначения кластеров.

**Рисунок 3.** Дендрограмма, построенная по алгоритму MST (minimum spanning tree) с использованием программы BioNumerics, v 6.01, на основе MLVA – типирования по пяти локусам tandemных повторов. Распределение серовариантов по кластерам



Примечание: Штаммы *V. cholerae* El Tor I-1363, I-1139, I-1029, I-856, I-1162, I-1175, I-1479, I-1174 – не вошли в состав кластеров.



Изоляты, выделенные в 1978 году из сточных вод п. Досатуй, Приаргунского района и в 1974 году из воды р. Ингода (генотип 20\_0\_12\_3\_2), находятся в основании крупного кластерного комплекса I, образованного 40 штаммами, выделенными с 1973 по 1983 год из р. Ингода, оз. Кенон, сточных вод, а так же рек Чита, Сестреница, Жирейка, Аргунь и бачков поезда «Пекин-Москва».

Кластерный комплекс II представлен пятью штаммами одного аллельного профиля 17\_0\_12\_3\_2, выделенными в 1978, 1982 и 2005, 2009, 2012 годах. Данный комплекс находится на стыке двух крупных кластерных комплексов I и III. Одной из особенностей штаммов, входящих в этот немногочисленный кластер, является принадлежность к различным серогруппам при наличии одного MLVA-генотипа: три изолята 1978, 1982 и 2012 годов, выделенные из сточных вод и рек Ингода и Борзя, отнесены к сероварианту Инаба, изоляты 2005 и 2009 годов, выделенные из рек Бозья и Чита – к Огава. Другая особенность – это достаточно большой промежуток времени между выделением штаммов одного и того же MLVA-генотипа, составивший 34 года (1978 и 2012 гг.), что, скорее всего, связано совпадением генотипов, так как в результате длительной циркуляции штаммов в объектах окружающей среды возможны изменения в наиболее вариабельных локусах тандемных повторов [21].

Кластерный комплекс III наиболее обширный по количеству штаммов, включает в себя 54 изолята с 23 генотипами, 5 из которых дают начало подкластерам, из них в отдельный кластерный комплекс IV выделена группа штаммов с наибольшим числом однолокусных вариантов. В основании кластерного комплекса III находятся штаммы с генотипом 17\_0\_11\_3\_2, выделенные из рек Ингода и Борзя в 2015, 2016 годах. Однолокусные варианты данного генотипа выделялись в 1984, 1990 годах из рек Аргунь, Кия (22\_0\_11\_3\_2), в 1991 году из рек Чита, Ингода (14\_0\_11\_3\_2), в 1998 году из оз. Кенон (27\_0\_11\_3\_2), далее штаммы с генотипом X\_0\_11\_3\_2 выделяются в 2004 году из оз. Кенон (21\_0\_11\_3\_2) и с 2009 по 2016 год из рек Борзя, Чита и оз. Кенон (16\_0\_11\_3\_2, 15\_0\_11\_3\_2).

При анализе кластерного комплекса IV, сформированного из штаммов, выделенных из р. Борзя, озер Харанор и Кенон с генотипом X\_0\_10\_3\_2, установлено, что впервые штаммы с числом повторов 11\_0\_10\_3\_2, изолированы из воды и ила р. Борзя в 2006 году и продолжали выделяться до 2008 года. Появление генотипов, с измененным числом повторов по локусу VcA – 8\_0\_10\_3\_2 и 15\_0\_10\_3\_2 происходит через четыре года (2012 г.) в р. Борзя и оз. Харанор, в первом случае наблюдается редукция (уменьшение), а во втором дупликация (увеличение) повторов в локусе. Появление новых генотипов в пределах кластера происходит в 2013 году (14\_0\_10\_3\_2; 16\_0\_10\_3\_2

и 17\_0\_10\_3\_2) и 2015 г. (4\_0\_10\_3\_2), данные штаммы, помимо р. Борзя, начинают выделяться из оз. Кенон, изменения касаются также только локуса VcA.

Анализируя закономерности распространения следует отметить, что первичное появление штаммов новых, не характерных для территории генотипов в 70-е, 80-е, 90-е годы прошлого столетия, обнаружено в сточных водах с последующей изоляцией данных генотипов в основном из р. Ингода и оз. Кенон. Начиная с 2005 года на территории Забайкальского края доминируют штаммы, впервые выделенные из р. Борзя и оз. Харанор и обнаруживаемые в разное время из проб воды и ила рек Ингода, Чита, Аргунь, Борзя, а также озер Кенон и Харанор.

Выявлены штаммы, не вошедшие ни в один из кластерных комплексов, так как они отличаются от штаммов, входящих в состав кластерных комплексов по двум и более локусам. Такие, клонально не связанные изоляты, выделялись из сточных вод, ила и воды р. Ингода (1978, 1981, 1992, 1993, 2002, 2011 гг.), из воды озер Камышовое (1991 г.) и Кенон (1993 г.) и из ила сточных вод полей фильтрации в г. Борзя (1991 г.). Можно предположить, что обнаружение изолятов со значительными отличиями в MLVA-профиле связано с их заносом извне, а не с генетическими перестройками персистирующих в водоемах края вибрионов.

Интересен факт обнаружения у штаммов, выделенных из воды оз. Камышовое (1991 г.) и ила сточных вод п. Домна (1993 г.), не входящих в кластерные комплексы, гена интегразы конъюгативного элемента SXT (intSXT), способного к переносу генов антибиотикорезистентности. Так же элемент SXT был обнаружен у штамма, выделенного в 1982 году из сточных вод аэропорта, перед сбросом в р. Ингоду. MLVA-профиль данного штамма (17\_0\_12\_3\_2) совпадает с профилем штаммов, выделенных 1978 и 2009 годах из рек Ингода и Чита. По литературным данным, в эндемичных районах впервые SXT элемент обнаружен у штаммов 1978 – 1984 годов [22, 23].

У трех штаммов, два из которых не входят в кластерные комплексы, обнаружен ген tnpO183, находящийся в составе острова пандемичности (VSP-I, *Vibrio seventh pandemic island*), и характерного в основном для токсигенных штаммов [12]. Присутствие в геноме изолятов SXT и фрагментов острова пандемичности может служить дополнительным маркером указанной группы штаммов. Сопоставление MLVA-генотипов и принадлежности штаммов к сероварианту показало, что изоляты *V. cholerae* разных серовариантов равномерно распределены по всему дереву, однако в основаниях всех клоновых комплексов находятся штаммы сероварианта Инаба, а штаммы, не вошедшие в клоновые комплексы, в большинстве случаев относятся к сероварианту Огава. Штамм *V. cholerae* R-вариант так-

Таблица 2

Сравнение MLVA-генотипов штаммов хранящихся на 0,3%ПЖА и в лиофилизированном состоянии

№ штамма	Год выделения	Условия хранения	VcA	VcB	VcC	VcD	VcG
			Количество повторов по каждому локусу				
И-1063	1982	в лиофилизированном состоянии	9	0	12	3	2
И-1063		на полужидком агаре	9	0	11	3	2
И-1089	1983	в лиофилизированном состоянии	15	0	8	3	2
И-1089		на полужидком агаре	16	0	9	3	2
И-1092	1983	в лиофилизированном состоянии	10	0	14	3	2
И-1092		на полужидком агаре	14	0	15	3	2
И-1093	1984	в лиофилизированном состоянии	17	0	9	3	2
И-1093		на полужидком агаре	16	0	6	3	2
И-1162	1992	в лиофилизированном состоянии	12	0	17	3	2
И-1162		на полужидком агаре	12	0	17	3	2
И-1413	2006	в лиофилизированном состоянии	11	0	10	3	2
И-1413		на полужидком агаре	11	0	10	3	2
И-1427	2008	в лиофилизированном состоянии	11	0	10	3	2
И-1427		на полужидком агаре	11	0	11	3	2

же находится за пределами клоновых комплексов (см. рис. 3). Выявлено три случая принадлежности к идентичным MLVA-генотипам (17\_0\_13\_3\_2; 20\_0\_8\_3\_2, 15\_0\_10\_3\_2) штаммов как сероварианта Инаба, так и Огава. В двух случаях между выделением *V. cholerae* El Tor одного и того же MLVA-генотипа и относящихся к разным серовариантам, лежат значительные временные промежутки равные 34 и 20 годам, что, скорее всего, связано с совпадением генотипов, но в тоже время не исключена и возможность сероконверсии. В третьем случае штаммы с идентичным генотипом и разных серовариантов выделены в один и тот же год в территориально близких точках (оз. Харанор и р. Борзя), что так же позволяет предположить возможность сероконверсии. По литературным данным, варианты данного перехода от одного серотипа к другому и наоборот, возможны, как в лабораторных условиях, так и в естественной среде обитания вибриона [18, 24, 25].

В рамках работы исследована стабильность локусов при различных условиях хранения. Проведено сравнение числа повторов по локусам у 15 штаммов, полученных из МЖК, хранящихся в лиофилизированном состоянии и тех же штаммов, хранящихся на 0,3% полужидком агаре (ПЖА) с ежегодным пересевом. Определено изменение в локусах VcA и VcC на 1, 2 или 3 повтора при ста-

бильном числе повторов по локусам VcD и VcG у штаммов, хранящихся на ПЖА более 20 лет. Штаммы, хранящиеся на ПЖА 8 и 10 лет, отличались только в одном случае на один повтор от лиофильно-высушенных штаммов, у остальных изолятов изменений в аллельном профиле не обнаружено (табл. 2).

Наблюдается заметная стабильность локусов VcD и VcG как среди штаммов, входящих в клональные комплексы, так и среди штаммов, подвергнутых большому числу пересевов и хранению на ПЖА. Все штаммы с уникальным числом повторов по локусам VcD и VcG относятся к *V. cholerae* El Tor, не вошедшим в кластерные комплексы.

#### Выводы

1. В поверхностных водоемах Забайкальского края установлена гетерогенность популяции *V. cholerae* El Tor по структуре локусов переменных тандемных повторов.
2. Обнаружение групп изолятов с идентичным или сходным MLVA-профилем, входящих в кластерные комплексы, свидетельствует об их длительном сохранении в отдельных экологических нишах, при этом в процессе адаптации аллельные профили штаммов подвергаются незначительной трансформации по наиболее переменным локусам.

3. Идентификация *V. cholerae* El Tor с существенно отличающейся от доминирующих клонов структурой локусов варибельных tandemных повто-

ров может служить доказательством их заносного происхождения.

## Литература

1. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титов С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С. и др. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии. Вестник РАМН. 2015; 70 (2): 249 – 256.
2. Козыкина Н.В. Китайская миграция в Забайкальском крае: состояние и тенденции развития: Автореф. дис. ... канд. полит. наук. Москва; 2011.
3. Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H., Broza Y.Y., Goldshmidt H., Malul E. et al. *Vibrio cholerae* Strain Typing and Phylogeny Study Based on Simple Sequence Repeats. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (3): 736 – 746.
4. Zhou H., Cui Z., Diao B., Zhang C., Pang B., Zhang L. et al. A three-loci variable number of tandem repeats analysis for molecular subtyping of *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Foodborne Pathog. Dis.* 2013; 10(8): 723 – 730.
5. Stine O. C., and Morris J. G. Circulation and transmission of clones of *Vibrio cholerae* during cholera outbreaks. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379: 181 – 193.
6. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26 (11): 2465 – 2466.
7. Moore S., Miwanda B., Sadjji A.Y., Thefenne H., Jeddi F., Rebaudet S., et al. (2015) Relationship between Distinct African Cholera Epidemics Revealed via MLVA Haplotyping of 337 *Vibrio cholerae* Isolates. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6): e0003817.
8. Bhowmick T.S., Das M., and Sarkar B.L. Evaluation of Vca VNTR as a strain-typing and phylogeny study method of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiology and Infection.* 2010; 138 (11): 1637 – 1649.
9. Кульшань Т.А., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И. Молекулярное типирование методом MLVA типичных и генетически измененных природных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 114: 39 – 43.
10. Балахонov С.В., Козhevnikova A.C., Куликалова Е.С., Марамович А.С., Бренева Н.В., Ганин В.С. и др. Молекулярно-генетические особенности штаммов холерного вибриона, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока во время VII пандемии. *Журн. инфек. патол.* 2009; 16 (3): 9 – 16.
11. Хундеева Ж.Ю., Миронова Л.В., Афанасьев М.В., Пономарева А.С., Урбанович Л.Я., Хоменко Т.В. и др. MLVA-типирование в анализе структуры популяции штаммов *V. cholerae*, циркулирующих на территории Приморского края в период эпидемиологического благополучия. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* 2014; 1 (95): 84 – 89.
12. Мишанкин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М., Водопьянов С.О., Романова Л.В., Черепихина И.Я. и др. Мультилокусное VNTR-генотипирование культур холерных вибрионов, выделенных в г. Казань во время вспышки холеры летом 2001 г. *Журн. микробиол.* 2003; 611 – 615.
13. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser C.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (3): 1556 – 1561.
14. Hochhut B., Lotfi Y., Mazel D., Faruque S.M., Woodgate R., Waldor M.K. Molecular Analysis of Antibiotic Resistance Gene Clusters in *Vibrio cholera* O139 and O1 SXT Constins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2001; 45(11): 2991 – 3000.
15. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанкин М.Б., Сучков И.Ю. Варибельные tandemные повторы, выявленные при компьютерном анализе генома *Vibrio cholerae*. *Биотехнология.* 2001; 6: 85 – 88.
16. Selander R.K., Caugant D.A., Ochman H., Musser J.M., Gilmour M.N., Whittam T.S. et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Applied and Environmental Microbiology.* 1986; 51 (5): 873 – 884.
17. Юзвик Л.Н. Результаты многолетнего мониторинга холеры в Забайкалье. В кн: Вопросы эпидемиологии и профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных заболеваний: Сб. научных статей. Чита: Экспресс-издательство; 2013: 46 – 50.
18. Kendall E.A., Chowdhury F., Begum Y., Khan A.I., Li S., Thierer J.H. et al. Relatedness of *Vibrio cholerae* O1/O139 isolates from patients and their household contacts, determined by Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis. *Journal of Bacteriology.* 2010; 192 (17): 4367 – 4376.
19. Ghosh R., Nair G.B., Tang L., Morris J.G., Sharma N.C., Ballal M. et al. Epidemiological study of *Vibrio cholerae* using variable number of tandem repeats. *FEMS Microbiol Lett.* 2008; 288: 196 – 201.
20. Choi SY, Lee JH, Jeon YS, Lee HR, Kim EJ, Ansaruzzaman M, et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring classical toxin B. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59 (Pt 7): 763 – 769.
21. Миронова Л.В., Хундеева Ж.Ю., Басов Е.А., Пономарева А.С., Миткеева С.К., С.В. Балахонov. Анализ стабильности генотипа *Vibrio cholerae* в условиях низкой температуры и дефицита питательных веществ. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 3: 52 – 56.
22. Mohapatra S.S., Mantri C.K., Mohapatra H., Colwell R.R., Singh D.V. Analysis of clonally related environmental *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolated before 1992 from Varanasi, India reveals origin of SXT-ICEs belonging to O139 and O1 serogroups. *Environ Microbiol. Rep.* 2010; 2 (1): 50 – 57.
23. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S. et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477: 462 – 466.
24. Stroehrer U.H., Karageorgos L.E., Morona R., Manning P.A. Serotype conversion in *Vibrio cholerae* O1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 89 (7): 2566 – 2570.
25. Марамович А.С., Ганин В.С., Осауленко О.В. Состав популяции холерных вибрионов по серологическим вариантам. Эпидемиология и профилактика ООИ в МНР и СССР. Матер. междунар. конф. работн. учреждений ООИ МНР и противочум. учрежд. СССР. Улан-Батор; 1982: 152 – 155.

## References

1. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Titov S.V., Adamenko O.L., Vodop'yanov A.S. et al. Surveillance of cholera in Russia during the seventh pandemic. *Vestnik RAMN [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences].* 2015; 70 (2): 249 – 256 (in Russian).
2. Kozykina N.V. Chinese migration in the Trans-Baikal Region: state and development trends: PhD of polit. sci. diss. Moscow; 2011 (in Russian).
3. Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H., Broza Y.Y., Goldshmidt H., Malul E. et al. *Vibrio cholerae* Strain Typing and Phylogeny Study Based on Simple Sequence Repeats. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (3): 736 – 746.
4. Zhou H., Cui Z., Diao B., Zhang C., Pang B., Zhang L. et al. A three-loci variable number of tandem repeats analysis for molecular subtyping of *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Foodborne Pathog. Dis.* 2013; 10(8): 723 – 730.
5. Stine O.C., Morris J.G. Circulation and transmission of clones of *Vibrio cholerae* during cholera outbreaks. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379: 181 – 193.
6. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26 (11): 2465 – 2466.
7. Moore S., Miwanda B., Sadjji A.Y., Thefenne H., Jeddi F., Rebaudet S., et al. (2015) Relationship between Distinct African Cholera Epidemics Revealed via MLVA Haplotyping of 337 *Vibrio cholerae* Isolates. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(6): e0003817.
8. Bhowmick T.S., Das M., Sarkar B.L. Evaluation of Vca VNTR as a strain-typing and phylogeny study method of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiology and Infection.* 2010; 138 (11): 1637 – 1649.
9. Kulshan T.A., Krasnov J.M., Lozovskiy Y.V., Smirnov N.I. Molecular typing by MLVA typical natural and genetically modified strains of *Vibrio cholerae* El Tor biovar. *Plague.* 2012; 114: 39 – 43 (in Russian).
10. Balakhonov S.V., Kozhevnikova A.S., Kulikalova E.S., Maramovich A.S., Breneva N.V., Ganin V.S. et al. Molecular genetic characteristics of strains of *Vibrio cholerae* isolated in Siberia and the Far East during the pandemic VII. *Zhurnal infektsionnoy patologii. [Journal of Infectious Diseases].* 2009; 16 (3): 9 – 16 (in Russian).
11. Hunheeva Zh.Yu., Mironova L.V., Afanasyev M.V., Ponomareva A.S., Urbanovich L.J., Khomenko T.V. et al. MLVA-typing of strains in the population structure analysis of *V. cholerae*, circulating in the Primorye Territory in the period of epidemiological welfare. *Bulletin ESSC SB RAMS. Bulletin' Vostochno Sibirskogo Nauchnogo Centra Sibirskogo Otdeleniya Rossyskoi Akademii Medicinskih nauk. [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences].* 2014; 1 (95): 84 – 89 (in Russian).
12. Mishankin B.N., Vodop'yanov A.S., Lomov Y.M., Vodop'yanov S.O., Romanova L.V., Cherepahina I.J. et al. Multilocus VNTR-genotyping cultures of *V. cholerae* isolated in Kazan during an outbreak of cholera in the summer of 2001. *Zhurnal Mikrobiologii. [Journal of Microbiology].* 2003; 611 – 15 (in Russian).
13. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser C.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (3): 1556 – 1561.
14. Hochhut B., Lotfi Y., Mazel D., Faruque S.M., Woodgate R., Waldor M.K. Molecular Analysis of Antibiotic Resistance Gene Clusters in *Vibrio cholera* O139 and O1 SXT Constins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2001; 45 (11): 2991 – 3000.

15. Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Mishankin M.B., Suchkov I.Y. Variable tandem repeats identified by computer analysis of the genome of *Vibrio cholerae*. *Biotechnologia*. [Biotechnology]. 2001; 6: 85 – 88 (in Russian).
16. Selander R.K., Caugant D.A., Ochman H., Musser J.M., Gilmour M.N., Whittam T.S. et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Applied and Environmental Microbiology*. 1986; 51 (5): 873 – 884.
17. Yuzvik L.N. The results of long-term monitoring of cholera in the Trans-Baikal region. In: *Epidemiology and prevention of extremely dangerous and natural focal infectious diseases: Coll. scientific articles*. Chita: Express Publishing; 2013: 46 – 50 (in Russian).
18. Kendall E.A., Chowdhury F., Begum Y., Khan A.I., Li S., Thierer J.H. et al. Relatedness of *Vibrio cholerae* O1/O139 isolates from patients and their household contacts, determined by Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis. *Journal of Bacteriology*. 2010; 192 (17): 4367 – 4376.
19. Ghosh R., Nair G.B., Tang L., Morris J.G., Sharma N.C., Ballal M. et al. Epidemiological study of *Vibrio cholerae* using variable number of tandem repeats. *FEMS Microbiol. Lett.* 2008; 288: 196 – 201.
20. Choi S.Y., Lee J.H., Jeon Y.S., Lee H.R., Kim E.J., Ansaruzzaman M. et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring classical toxin B. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59 (Pt 7): 763 – 9.
21. Mironova L.V., Hunheeva Z.Y., Basov E.A., Ponomareva A.S., Mitkeeva S.K., Balakhonov S.V. Stability analysis of the genotype of *Vibrio cholerae* in the environment of low temperature and nutrient deficiency. *Problemi Osobo Opasnih Infekcy*. [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 3: 52 – 56 (in Russian).
22. Mohapatra S.S., Mantri C.K., Mohapatra H., Colwell R.R., Singh D.V. Analysis of clonally related environmental *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolated before 1992 from Varanasi, India reveals origin of SXT-ICEs belonging to O139 and O1 serogroups. *Environ Microbiol. Rep.* 2010; 2 (1): 50 – 57.
23. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S. et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477: 462 – 466.
24. Stroehrer U.H., Karageorgos L.E., Morona R., Manning P.A. Serotype conversion in *Vibrio cholerae* O1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1992; 89 (7): 2566 – 2570.
25. Maramovich A.S., Ganin V.S., Osaulenko O.V. The composition of the population of *V. cholerae* for serological variants. *Epidemiology and Prevention particularly dangerous infections in the MPR and the USSR. Matererialy international conference of workers of establishments of PDI and Mongolia protivochum. established. The USSR. Ulaanbaatar; 1982: 152 – 155 (in Russian).*

## ИНФОРМАЦИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

### О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад (Извлечения. Начало на стр. 17.

Продолжение на стр. 64)

Работа по реализации мероприятий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса страны в 2016 году осуществлялась в соответствии с обновленным Национальным планом действий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса Российской Федерации на 2016 – 2018 годы.

Следуя рекомендациям ВОЗ, в соответствии с резолюцией Всемирной ассамблеи здравоохранения WHA 68.3 в РФ в апреле 2016 года осуществлен переход с трехвалентной оральной полиовакцины (тОПВ) на бивалентную оральную полиовакцину (БОПВ) против 1-го и 3-го типов полиовируса.

В Российской Федерации зарегистрирована и применяется отечественная БОПВ, завершена регистрация моновалентной оральной полиомиелитной вакцины типа 2, ведутся разработки отечественной инактивированной полиомиелитной вакцины (ИПВ).

По итогам 2016 года, как и в течение последних трех лет, в целом по стране достигнуты требуемые показатели своевременности вакцинации и ревакцинации детей (не менее 95%) против полиомиелита в декретированных возрастах, что подтверждается данными серологического мониторинга коллективного иммунитета, проводимого в стране ежегодно. При этом остаются территории, не достигшие данного показателя в возрасте: 12 месяцев – 5 субъектов Российской Федерации (Ненецкий АО, Республика Крым, Ханты-Мансийский АО, Чувашская, Чеченская Республики), 24 месяцев – 9 субъектов (Республика Крым, Ненецкий АО, Чувашская Республика, Ханты-Мансийский АО, Свердловская область, Чеченская Республика, Псковская область, Алтайский край, Республика Карелия), 14 лет – 2 субъекта (Московская и Курганская области).

Несмотря на высокие показатели своевременности иммунизации, в Российской Федерации за

последние 5 лет ежегодно растет число детей в возрасте до 5 лет, уязвимых к полиовирусной инфекции (получившие менее 3 доз полиовакцины). В 2016 году этот показатель составил 2,3% от состоящих на учете. Данная неблагоприятная тенденция может быть связана, прежде всего, с отказами родителей от иммунизации детей.

Кроме того, сохраняется проблема несоблюдения медицинскими работниками санитарного законодательства в области профилактики вакциноассоциированного паралитического полиомиелита (ВАПП), что увеличивает риск возникновения заболевания. Так, в 2016 году в результате нарушения действующих нормативных правовых и методических документов по части профилактики ВАПП зарегистрирован 1 случай острого паралитического полиомиелита, ассоциированного с вакциной у реципиента в Архангельской области.

В целом по стране ежегодно основные показатели чувствительности и качества эпидемиологического надзора за острыми вялыми параличами (ОВП) (показатель заболеваемости ОВП, своевременность выявления случаев ОВП и проведения эпидемиологического расследования, адекватность отбора проб и полнота вирусологических исследований и др.) соответствуют регламентированным нормативным правовым и методическим документам Российской Федерации с учетом рекомендаций ВОЗ.

Вместе с тем в ряде субъектов данные показатели не достигнуты регламентируемых значений, что в конечном итоге отражается на сроках и качестве противоэпидемических (профилактических) мероприятий. Кроме того, в последние 3 года выявлены факты пропуска медицинскими работниками полиовирусной инфекции.