

10. Le Moigne V., Gaillard J.L., Herrmann J.L. Vaccine strategies against bacterial pathogens in cystic fibrosis patients. *Med. Mal. Infect.* 2016 Feb;46(1):4-9.
11. Ma J.G., An J.X. Deep sternal wound infection after cardiac surgery: a comparison of three different wound infection types and an analysis of antibiotic resistance. *J. Thorac. Dis.* 2018 Jan;10(1):377-387.
12. Sambrook J.F., Russell D.W. *Molecular Cloning*, 2001.
13. Zowalaty M.E., Thani A.A., Webster T.J. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: arsenal of resistance mechanisms, decades of changing resistance profiles, and future antimicrobial therapies. *Future Microbiol.* 2015;10(10):1683-706.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

И.В.Савельева, А.Н.Куличенко, В.Н.Савельев, Д.А.Ковалев, О.В.Васильева, А.М.Жиров, Е.И.Еременко, Е.И.Подопригора, Б.В.Бабенюшев, И.В.Кузнецова, Л.В.Гусева

MLVA-ТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ *VIBRIO CHOLERAЕ* BIOTYPE *EL TOR*, ИЗОЛИРОВАННЫХ В РОССИИ И УКРАИНЕ В ПЕРИОД СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ ХОЛЕРЫ

Ставропольский противочумный институт

Цель. Провести в сравнительном аспекте MLVA-типирование генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных в период эпидемии (1994 г.) и вспышек (1993, 1998 гг.) в Дагестане, с изолятами в г. Мариуполе (Украина) в 1994—2011 гг., в Москве (2010, 2012 гг.), Индии (1964, 2006, 2007 гг.), Бангладеш (1991, 1994, 2001, 2004 гг.) и установить филогенетические связи между штаммами холерных вибрионов, изолированных в разные годы на данных территориях, выявить источник их заноса. *Материалы и методы.* MLVA-типирование проводили в ПЦР по 5 вариабельным локусам 35 клинических штаммов генетически измененных *Vibrio cholerae* биотуре El Tor. Полученные ампликоны изучали в системе автоматического капиллярного электрофореза Experion («Bio Rad Laboratories», США). Для филогенетического анализа наряду с MLVA-генотипами 35 штаммов *Vibrio cholerae* из коллекции института использовали опубликованные генотипы штаммов, выделенных в Индии, Бангладеш, Гаити. *Результаты.* Исследуемые штаммы холерного вибриона отнесены к 21 MLVA-типу, подразделяющимся на 2 основные клады и 1 отдельную ветвь с клональными кластерами и субкластерами, каждый из которых содержит близкородственные штаммы геновариантов холерного вибриона, имеющих различную степень филогенетического родства — полную или частичную идентичность аллельных профилей пяти вариабельных локусов. Установлены источники заноса генетически измененных *Vibrio cholerae* биотуре El Tor в Россию и Украину из неблагополучных по холере Индии, Бангладеш, Азербайджана и стран Ближнего Востока. *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о полиморфизме MLVA-типов генетически измененных штаммов холерного вибриона биовара Эль Тор, эволюционно сформировавшихся в разные годы и вызвавших эпидемии или вспышки холеры на различных территориях в различные временные периоды течения седьмой пандемии холеры, а также позволяют предположить поликлональное происхождение геновариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор и источник их заноса на территорию Российской Федерации и Украины.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 37—43

Ключевые слова: генетически измененные варианты холерного вибриона биовара Эль Тор, MLVA-типирование, источник заноса геновариантов в Россию и Украину, полиморфизм, поликлональное происхождение геновариантов

I.V.Savelieva, A.N.Kulichenko, V.N.Saveliev, D.A.Kovalev, O.V.Vasilieva, A.M.Zhirov, E.I.Eremenko, E.I.Podoprighora, B.V.Babenyshv, I.V.Kuznetsova, L.V.Guseva

MLVA-TYPING OF CLINICAL STAMPS OF GENETICALLY CHANGED *VIBRIO CHOLERAЕ* BIOTYPE *EL TOR* INSULATED IN RUSSIA AND UKRAINE IN THE PERIOD OF SEVENTH PANDEMIC CHOLERA

Stavropol Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. Conduct in a comparative aspect MLVA-typing of genetically altered cholera vibrio biovar *El Tor*, isolated from patients during the epidemic (1994) and outbreaks (1993, 1998) in Dagestan with isolates in Mariupol (Ukraine) in 1994-2011 in Moscow (2010, 2012), India (1964, 2006, 2007), Bangladesh 1991,

1994, 2001, 2004) and to establish phylogenetic connections between strains of cholera vibrios isolated in different years in these territories, to ascertain the source of their drift. *Materials and methods.* MLVA-typing was carried out in PCR at 5 variable loci of 35 clinical strains of genetically modified *Vibrio cholerae* byotype *El Tor*. The obtained amplicon was studied in the system of automatic capillary electrophoresis Experion («Bio Rad Laboratories», USA). For phylogenetic analysis, along with MLVA-genotypes, 35 strains of *Vibrio cholerae* from the Institute's collection used published genotypes of strains isolated in India, Bangladesh, Haiti. *Results.* The investigated strains of cholera vibrio are referred to 21 MLVA-types, divided into 2 main clades and 1 separate branch with clonal clusters and subclusters, each of which contains closely related strains of cholera vibrio genovariants having a different degree of phylogenetic relationship — full or partial identity of allelic profiles of five variable loci. The sources of drift of genetically modified *Vibrio cholerae* byotype *El Tor* to Russia and Ukraine from disadvantaged cholera of India, Bangladesh, Azerbaijan and the countries of the Middle East have been established. *Conclusion.* The obtained data testify to the polymorphism of MLVA-types of genetically altered strains of cholera vibrio of the biologist *El Tor*, evolved in different years and caused epidemics or outbreaks of cholera in different territories during different time periods of the course of the seventh cholera pandemic, and also suggest the polyclonal origin of the *Vibrio cholerae* biovar *El Tor* and the source of their drift to the territory of the Russian Federation and Ukraine.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 37—43

Key words: genetically modified *V. cholerae* biotype *El Tor*, MLVA-typing, source of drift of genovariants to Russia and Ukraine, polymorphism, polyclonal origin of the genovariants

ВВЕДЕНИЕ

Геномная идентификация и типирование бактерий используются для решения задач в области таксономии, эпидемиологии, установления филогенетического родства, исследования механизмов эволюции. В настоящее время разработаны многочисленные методы типирования микроорганизмов, в том числе и *Vibrio cholerae*, отличающиеся по чувствительности, скорости проведения, сложности, воспроизводимости, трудоемкости и стоимости [7, 15, 18, 19]. Для типирования *Vibrio cholerae* широко используется метод MLVA (multilocus-variable tandem repeat analysis), предусматривающий сравнительный анализ количества вариабельных тандемных повторов (VNTR — variable number of tandem repeats) в определенных локусах, расположенных на I и II хромосомах холерного вибриона [1, 10, 12].

Цель работы — провести MLVA-типирование генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных от больных в период эпидемии (1994 г.) и вспышек (1993, 1998 гг.) холеры в Дагестане с изолятами в г. Мариуполе (Украина) в 1994–2011 гг., в Москве (2010, 2012 гг.), Индии (1964, 2006, 2007 гг.), Бангладеш (1991, 1994, 2001, 2004 гг.) и установить филогенетические связи между штаммами холерных вибрионов, изолированных в разные годы на данных территориях, выяснить источник их заноса на территорию Российской Федерации и Украины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 35 штаммов генетически измененных холерных вибрионов биовара Эль Тор, выделенных в Дагестане — от больных холерой в 1993 г. (5 штаммов), в 1994 г. (9 штаммов) и в 1998 г. (10 штаммов); 9 штаммов, выделенных в г. Мариуполе (Донецкая область, Украина) — 7 штаммов от человека (1994, 1995, 2011 гг.) и 2 из объектов окружающей среды: сточная вода холерного госпиталя (табл. 2, № 29), 1994 г., морская вода канала (табл. 2, № 27), 2011 г.); 2 штамма, выделенных в Москве от пассажиров авиарейса из Индии (2010, 2012 гг.). На момент выделения штаммы холерных вибрионов, идентифицированные в Дагестане и на Украине как типичный токсигенный биовар Эль Тор (*V. cholerae* O1, *El Tor*, *Ogawa*, *Hly* -, *ctxA*⁺, *tcpA*⁺), впоследствии оказались генетически измененными (гибридными) вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор, продуцирующими энтеротоксин СТ1, обладающие повышенной вирулентностью, что клинически выразилось в

преобладании тяжелых форм течения холеры [2, 4, 5, 13]. В качестве референтного использовали штамм *V.cholerae* O1, Inaba классического биовара № 569В, выделенный от больного в Пакистане в 1965 г.

Все штаммы холерных вибрионов получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Для культивирования бактерий использовали агар Хоттингера рН 7,8–8,0 и щелочной бульон.

Выделение бактериальной ДНК осуществляли в соответствии с инструкцией к набору Амплипрайм, «AmpliSens» (Россия). Полученную тотальную ДНК использовали для амплификации фрагментов генома изучаемых штаммов холерных вибрионов.

В качестве переменных участков генома *V.cholerae* использованы 5 докусов: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома) [6, 8, 10]. В ПЦР-амплификации использовали праймеры к этим локусам, изготовленные в соответствии с [8] в лаборатории биохимии ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (табл. 1), получая по 5 ампликонов для каждого из 35 штаммов *V.cholerae*.

Амплификацию ДНК проводили в термоциклере («Терцик», Россия). Полученные ампликоны изучали в системе автоматического капиллярного электрофореза Exregion («Bio Rad Laboratories», США). Размеры ампликонов в п.н. переводили в цифровой код, соответствующий числу тамбемных повторов, вычитая из размеров 2 праймеров и последовательностей между праймерами до области повторов с делением размера полученной области на размер единицы повтора. Для филогенетического анализа наряду с MLVA-генотипами 35 штаммов *V.cholerae* из коллекции института использовали опубликованные генотипы штаммов, выделенных в Индии, Бангладеш, а также определенный *in silico* MLVA-генотип штамма *V.cholerae* HC1037, выделенного на Гаити в 2014 году. Для построения филогенетического дерева применяли метод UPGMA в программе PHYLONIZ v.2.0. Варибельность VNTR-локусов оценивали по индексу разнообразия Хантера-Гастона (Hunter-Gaston discrimination, HGDI) [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения переменных участков генома *V. cholerae* по 5 локусам: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома) представлены в табл. 2, из данных которой следует, что 35 изученных генетически измененных штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор представлены 21 MLVA-типами. При этом 5 генетически измененных штаммов *V.cholerae* биовара Эль Тор, выделенные в Махачкале в 1993 г., имели 5 различных MLVA-генотипов (2, 3, 4, 5, 6). Штаммы геновариантов, выделенные в Дагестане в 1994 г., отнесены к 1, 7, 8, 9, 10 и 11 MLVA-типам, а выделенные в 1998 г. — к 12, 13, 14. Штаммы, выделенные в Украине (г. Мариуполь) в 1994 г., обладали MLVA-генотипами 17 и 18, в 1995 г. — 15, в 2011 г. — 15, 16 (вода канала) и 19 (два штамма). Выделенные в 2010 и 2012 гг. в Москве 2 штамма геновариантов холерного вибриона Эль Тор относились к 20 и 21 MLVA-типам. Референтный штамм *V. cholerae* Classical 569В имел 22 MLVA-тип.

Таблица 1. VNTR-локусы и последовательности праймеров, использованные в работе

Локус	Нуклеотидная последовательность мотива	Праймеры (5' – 3')
VC0147 (белок FtsY)	AACAGA	F: CCAAACCACTGCAACGGATA R: GCTGCTCGACCTGAGAGAGA
VC0436-7(межгенная область)	GACCCTA	F: CGTGGTACTAAGTTCCACGC R: CGTTTTTACCACGCTCCGCTTC
VC01650 (коллагеназа)	GATAATCCA	F: CTACCAAGCGGCGGTAAAGCTG R: TGGGCAACCTGCTGGTAGC
VCA0171(гипотетический белок)	TGCTGT	F: GCATCATCCACAGCGTTTGG R: GCTGAAGCCTTTCGCGATCC
VCA0283(гипотетический белок)	ACCAGA	F: CTTTCATCGGCAACAAGACA R: TTGCGCACAAATCTCTTTGA

Таблица 2. MLVA-профили генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор (№№ 1-35, из коллекции института и №№ 36-46 из опубликованных в литературе)

№	Штамм	Место, год выделения	Аллель гена ctxB	Аллельные профили VC0147, VC0436-7, VC01650, VCA0171, VCA0283	MLVA- тип
1	64	Махачкала, 1994	ctxB 1	9,7,8,21,20	1
2	1045	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,9,14,24	2
3	1308	Махачкала, 1993	ctxB 1	8,6,9,14,24	3
4	1726	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,7,13,24	4
5	1020	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,7,13,18	5
6	16241	Махачкала, 1993	ctxB 1	9,7,6,14,18	6
7	16265	Дагестан, с. Гергебиль, 1994	ctxB 1	9,7,7,14,18	7
8	17261	Дагестан, с. Маджалис, 1994	ctxB 1	8,7,7,14,19	8
9	17260	Дагестан, Акушинский р-н, 1994	ctxB 1	9,6,7,15,18	9
10	17280	Дагестан, Шамильский р-н, 1994	ctxB 1	9,6,7,15,18	9
11	17296	Дагестан, с. Унцукуль, 1994	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
12	17307	Дагестан, Дахадаевский р-н, 1994	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
13	17332	Дагестан, г. Махачкала, 1994	ctxB 1	9,7,8,15,19	11
14	17374	Дагестан, Ногайский р-н, 1994	ctxB 1	9,7,8,15,19	11
15	3D	Дагестан, г. Дербент, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,25	12
16	6D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,25	12
17	8D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,6,8,13,19	13
18	13D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
19	16D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
20	17D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
21	24D	Дагестан, Дербентский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
22	33D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
23	39D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
24	41D	Дагестан, Хивский р-н, 1998	ctxB 1	8,7,8,13,25	14
25	12 K	Мариуполь, 1995	ctxB 1	8,3,6,13,19	15
26	31K	Мариуполь, 2011	ctxB 7	8,3,6,13,19	15
27	39K	Мариуполь, 2011	ctxB 1	9,3,6,13,22	16
28	43K	Мариуполь, 1994	ctxB 1	8,6,8,14,26	17
29	56K	Мариуполь, 1994	ctxB 1	8,6,8,14,26	17
30	80K	Мариуполь, 1994	ctxB 1	8,6,8,14,26	17
31	137K	Мариуполь, 1994	ctxB 1	9,6,8,14,25	18
32	239K	Мариуполь, 2011	ctxB 1	9,3,6,13,19	19
33	551K	Мариуполь, 2011	ctxB 1	9,3,6,13,19	19
34	6878M	Москва, 2010	ctxB 1	9,3,6,13,18	20
35	3266/80	Москва, 2012	ctxB 1	9,3,6,13,26	21
36	569B	Пакистан, 1965	ctxB 1	10,4,3,16,34	22
37	868	Индия, 1964	ctxB 1	8,6,8,14,35	23
38	178	Индия, 2006	ctxB 1	9,3,6,19,17	24
39	200	Индия, 2006	ctxB 1	9,3,6,22,19	25
40	236	Индия, 2007	ctxB 1	9,3,6,17,16	26
41	350	Индия, 2007	ctxB 1	10,6,7,15,19	10
42	AR32732	Бангладеш, 2004	ctxB 1	9,3,6,22,12	27
43	MQ1795	Бангладеш, 2001	ctxB 1	9,3,6,16,11	28
44	MJ1236	Бангладеш, 1994	ctxB 1	8,7,8,12,19	29
45	MG1 16926	Бангладеш, 1991	ctxB 1	8,7,8,14,23	30
46	HC1037	Гаити, 2014	ctxB 1	7,3,6,14,8	31

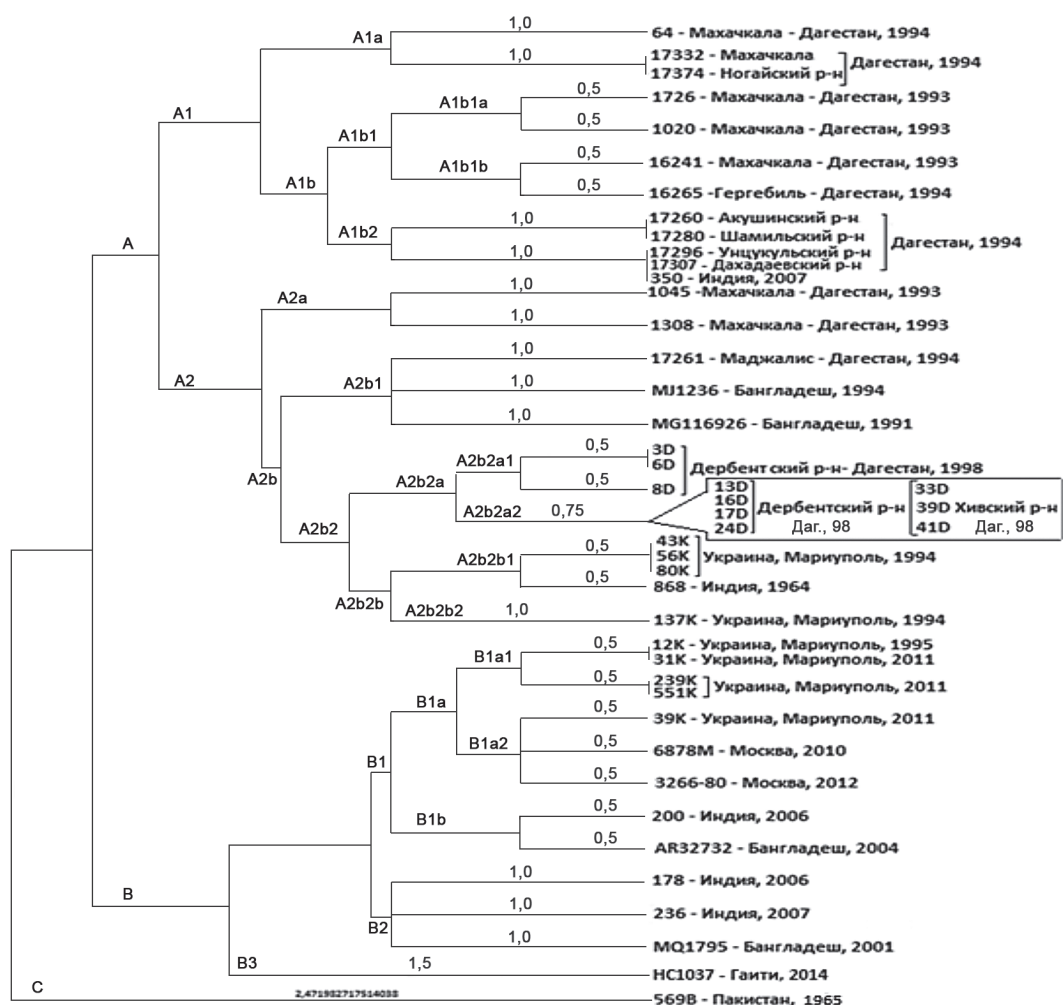
Исследования ДНК 35 штаммов геновариантов холерного вибриона показали, что для локусов I хромосомы характерно присутствие 5-6 аллелей, а локусы II хромосомы содержали 8 аллелей. На разный уровень полиморфизма сравниваемых локусов указывает индекс разнообразия Хантера-Гастона, который в наших исследованиях по всем 5 локусам был более 0,95. Для локусов I хромосомы HGDI составил 0,54-0,71, а для локусов II хромосомы — 0,44-0,83, что означает более высокий уровень стабильности первых трех хромосомных локусов с двумя другими, локализованными на II хромосоме. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [3, 6, 8, 14].

Анализ построенной дендрограммы на основе MLVA-типирования по 5 выше-названным локусам выявил деление всех штаммов на 2 основные клады — А и В, а также отдельную ветвь С, представленную единственным штаммом 569В классического биотипа, выделенным в Пакистане в 1965 году (рис.).

К основной кладе А принадлежали штаммы, выделенные в Дагестане в 1993, 1994 и 1998 годах и в Мариуполе в 1994 году. Дальнейшая детализация клады А разделяет ее на кластеры А1 (штаммы из Дагестана 1993 и 1994 гг.) и А2 (штаммы из Дагестана 1993, 1994 и 1998 гг., из Мариуполя 1994 г.). Кластер А1 включает субкластеры (СБ) А1а и А1б с субкластерами низшего ранга. СБ А1а объединяет два штамма с идентичным генотипом из Махачкалы и Ногайского р-на и отличающийся от них двумя локусами штамм 64 из Махачкалы (все выделены в 1994 г.).

СБ А1б1 следует считать клональным кластерным комплексом (ККК), генотипы которого отличались не более чем одним локусом, ввиду чего штаммы, выделенные в Махачкале в 1993 г., и штамм, выделенный в Гергебилье в 1994 г., имеют общего предшественника.

СБ А1б2 объединил штаммы, выделенные в четырех районах Дагестана в 1994 году и штамм из Индии №250, изолированный в 2007 году, генотип которого сов-



Филогенетическое древо на основе MLVA-типирования 46 штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор по 5 локусам: VC0147, VC0436-7, VC01650 (I хромосома); VCA0171, VCA0283 (II хромосома).

падал с генотипом штаммов 17296 (Унцукульский р-н) и 17307 (Дахадаевский р-н). Это дает основания предположить, что все штаммы кластера А1 имеют общее происхождение и могут быть связаны с заносом холеры из Индии.

Кластер А2 объединяет СБ А2а и А2б с дальнейшим подразделением последнего на А2b1, А2b2 и СБ низшего ранга. В СБ А2а входят два штамма из Махачкалы (1993 г.), имеющие отличия по двум VNTR-локусам. СБ А2b1 объединяет штаммы из Бангладеш (1991 и 1994 гг.) со штаммом из Маджалиса (Дагестан, 1994 г.), также отличающихся между собой по 2 локусам. СБ А2b2 включает два ККК — А2b2а и А2b2b1, внутри каждого из которых генотипы штаммов отличаются только одним локусом. В ККК А2b2а входили 7 штаммов из Дербентского р-на Дагестана и 3 штамма из Хивского района Дагестана, выделенные в 1998 году и имеющие общего предшественника. ККК А2b2b1 содержал три штамма, выделенные в Мариуполе (Украина, 1994 г.) и штамм *V.cholerae* 868 из Индии, выделенный в 1964 г. Близкое родство генетически измененных штаммов из Дагестана и Украины и штамма *V.cholerae* 868 биотуре El Tor, который, вероятно, не был генетически измененным, говорит о том, что вариабельность MLVA-генотипов не связана с перестройкой генома, определяющей возникновение гибридных вариантов биотипа El Tor. Еще один штамм, выделенный в Мариуполе в 1994 году, имел отличия в двух локусах от представителей ККК А2b2b1. В целом, относительно части штаммов из Дагестана, выделенных в 1993 и 1994 гг., можно предположить их происхождение из Бангладеш. Штаммы из Дагестана, выделенные в 1998 гг., и штаммы из Мариуполя (1994 г.) могут иметь индийское происхождение.

Основная клада В представлена кластерами В1, В2 и ветвью В3. Кластер В1 составляют два ККК, в один из которых входят штаммы, выделенные в Мариуполе (Украина) в 1995 и 2011 гг., Москве в 2010 и 2012 гг., а во второй — штаммы из Индии (2006 г.) и Бангладеш (2007 г.). Кластер В2 объединяет штаммы, выделенные в Бангладеш (2001 г.) и Индии (2006 и 2007 гг.). Такая кластеризация предполагает занос холеры в Россию и Украину из этих двух стран Южной Азии. К дихотомии В1-В2 примыкает ветвь В3, представленная одним штаммом из Гаити, что может подтверждать установленное происхождение холеры в Гаити из этого региона (Непал) [11].

Сказанное позволяет утверждать, что штаммы холерного вибриона, вызвавшие эпидемические вспышки холеры в Дагестане (1993, 1994, 1998), Украине (1994, 1995, 2011), занесены из Индии и Бангладеш, а также из стран Ближнего Востока и из Азербайджана, куда генетически измененные варианты холерного вибриона биовара Эль Тор были ранее занесены из Индии и Бангладеш. Основанием констатации этого факта является то, что аллельные профили вариабельных локусов возбудителя холеры Эль Тор (8, 7, 8, XX; 9, 3, 6, XX; 10, 6, 7, XX), изолированные в Дагестане и Украине, не отличались от таковых, циркулирующих в эти годы в Индии (штаммы №№ 178, 200, 236 с аллелями 9, 3, 6, XX; № 350 с аллелью 10, 6, 7, XX) и в Бангладеш (штаммы №№ AR 32732, MQ 1795 с аллелью 9, 3, 6, XX; №№ MJ1236, MG 116926 с аллелями 8, 7, 8, XX) [9, 10].

Полученные данные свидетельствуют о полиморфизме MLVA-типов генетически измененных штаммов холерного вибриона биовара Эльтор, эволюционно сформировавшихся в разные годы и вызвавших эпидемии или эпидемические вспышки холеры на различных территориях в различные временные периоды течения седьмой пандемии холеры, а также позволяют предполагать поликлональное происхождение генетически измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, что согласуется с результатами других исследователей [6, 17].

MLVA-типирование позволяет определять клоны холерных вибрионов, формирующих очаги холеры на конкретных территориях в различные временные периоды течения эпидемии, выявлять новые клоны, свидетельствующие о продолжающихся завозах холеры и, возможно, устанавливать источники инфекции, что необходимо учитывать при осуществлении эпидемиологического надзора за холерой, обусловленной генетически измененными вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор.

ЛИТЕРАТУРА

1. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин М.Б., Сучков И.Ю. Варибельные тандемные повторы, выявленные при компьютерном анализе генома *Vibrio cholerae*. Биотехнология, 2001, 6:85-88.
2. Домашенко О.Н., Беломерыя Т.А., Мартынова Н.В., Дараген Г.М., Демкович О.О., Малахова Ю.В., Землянская Г.И., Попова Д.М. Холера в Приазовье. Журнал инфектологии, 2015, 7(2):2-97.
3. Мишанькин Б.Н., Романова Ю.М., Ломов Ю.М. *Vibrio cholerae* O139, выделенные от людей и из воды открытых водоемов: сравнительное генотипирование. Журн. микробиол. 2000, 3:3-7.
4. Савельев В.Н., Васильева О.В., Савельева И.В., Солодовников Б.В., Бабенышев Б.В., Грижебовский Г.М., Дорошенко И.Г. Ретроспективный анализ генотипов клинических штаммов холерного вибриона Эль Тор, выделенных на Кавказе в период седьмой пандемии холеры. Холера и патогенные для человека вибрионы. Ростов-на-Дону, 2010, 23:81-86.
5. Савельева И.В., Безсмертный В.Е., Савельев В.Н. Серологическая диагностика современной холеры с применением липосомального энтеротоксического диагностикума в реакции связывания комплемента. Инфекция и иммунитет. 2013, 3:286-287.
6. Смирнова Н.И., Кульшань Т.А., Краснов Я.М. MLVA-типирование клинических штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в разные периоды текущей пандемии холеры. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015, 33(1):15-22.
7. Boerlin P., Bannerman E., Ischer F. et al. Typing *Listeria monocytogenes*: a comparison of random amplification of polymorphic DNA with five methods. Res. Microbiol. 1995, 146: 35-49.
8. Choi S.U., Lee J.H., Jeon Y.S. et al. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring classical toxin B. J. Med. Microbiol. 2010, 59(3):763-769.
9. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J. et al. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. J. Med. Microbiol. 2010, 59(3):302-308.
10. Danin-Poleg Y., Cohen L.A., Gancz H. et al. *Vibrio cholerae* Strain Typing and Phylogenetic Study Based on Simple Sequence Repeats. J. Clin. Microbiol. 2007, 45(3):736-746.
11. Frerichs R.R., Keim P.S., Barraix R., Piarroux R. Nepalese origin of cholera epidemic in Haiti. Clin. Microbiol. Infect. 2012, 18:E158-E163.
12. Heidelberg J.F., Eisen J.A., Nelson W.C. et al. DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholera*. Nature. 2000, 406:477-483.
13. Kuleshov K.V. et al. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. Infection, Genetics and Evolution. 2016, 44, October: 471-478.
14. Lain C., Octavia S., Reeves R.P., Lan R. Multilocus variable-number tandem repeat analysis of 7th pandemic *Vibrio cholerae*. BMC Microbiol. 2012, 12(82):1471-2180.
15. Olive D.M., Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. J. Clin. Microbiol. 1999, 37:1661-1669.
16. Paul R. Hunter, Michael A. Huston. Numerical index of the Discriminatory Ability of Typing Systems: an Application of Simpson's index of Diversity. J. of Clinical Microbiology, 1988 Nov. 26(11):2465-2466.
17. Rashed S.M., Azman A.S., Alam M. et al. Genetic Variation of *Vibrio cholerae* O1 during Outbreaks, Bangladesh, 2010-2011. Emerg. Infect. Dis. 2014, 20 (1):54-60.
18. Van Belkum A., Struelens M., de Visser A. et al. Role of genomic typing in taxonomy, evolutionary genetics, and microbial epidemiology. Clin. Microbiol. Rev. 2001, 14:547-560.
19. Wiedmann M. Subtyping of bacterial food-borne pathogens. Nutr. Rev. 2002, 60:201-208.

ОПЫТ РАССЛЕДОВАНИЯ КРУПНОЙ ВСПЫШКИ ТУЛЯРЕМИИ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ Г. ХАНТЫ-МАНСИЙСК И ХАНТЫ-МАНСИЙСКОГО РАЙОНА В 2013 ГОДУ

¹Центр гигиены и эпидемиологии в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре, Ханты-Мансийск, ²Управление Роспотребнадзора по Ханты-Мансийскому автономному округу — Югре, Ханты-Мансийск, ³Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии

Цель. Опыт расследования крупной вспышки туляремии среди населения г. Ханты-Мансийск и Ханты-Мансийского района в 2013 году. *Материалы и методы.* Проанализированы материалы эпидемиологического мониторинга активности очагов туляремии в ХМАО-Югре за многолетний период, результаты лабораторных исследований биологических материалов и объектов окружающей среды на зараженность возбудителем туляремии при расследовании вспышки в 2013 году. *Результаты.* Проанализированы причины и особенности развития вспышки, противоэпидемические и профилактические мероприятия. Разработан алгоритм расследования вспышек туляремии и показана эффективность профилактических и противоэпидемических мероприятий по их ликвидации в напряженном природном очаге. *Заключение.* Мониторинг природных очагов туляремии подтверждает длительное сохранение их активности и жизнеспособности. Трансмиссивный характер вспышек обуславливает их масштабность и интенсивность, необходимость постоянных дезинсекционных и дератизационных мероприятий. Нашествие грызунов в населенные пункты можно считать прогностическим признаком ухудшения эпидемиологической ситуации и начинающейся вспышки, что позволяет заблаговременно предпринимать противоэпидемические мероприятия. Необходимо системное межведомственное взаимодействие (здравоохранение, органы исполнительной власти) для усиления внимания к профилактике и формирования у населения настороженности в отношении к проблеме туляремии.

Журн. микробиол., 2018, № 6, С. 44—48

Ключевые слова: туляремия, вспышка, Ханты-Мансийский округ

Н.А.Остапенко¹, И.И.Козлова¹, М.Г.Соловьева², Т.Ф.Степанова³, В.В.Мефодьев³

EXPERIENCE OF INVESTIGATION OF A LARGE OUTBREAK OF A TULAREMIA AMONG THE POPULATION OF KHANTY-MANSIYSK AND THE KHANTY-MANSIYSK REGION IN 2013

¹Center of Hygiene and Epidemiology in the Khanty-Mansiysk Autonomous District, Khanty-Mansiysk; ²Office of Rosпотребнадзор for the Khanty-Mansiysk Autonomous District, Khanty-Mansiysk; ³Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Russia

Aim. The experience of investigating a major outbreak of tularemia among the population of Khanty-Mansiysk and Khanty-Mansiysk Region in 2013. *Materials and methods.* The materials of epidemiological monitoring of activity of foci of tularemia in KhMAO for a long period of time, the results of laboratory studies of biological materials and environmental objects on infection with tularemia pathogen during investigation of the outbreak in 2013 are analyzed. *Results.* The causes and features of the outbreak development, anti-epidemic and preventive measures were analyzed. An algorithm for investigating tularemia outbreaks has been developed and the effectiveness of preventive and antiepidemic measures for their elimination in a strained natural focus has been shown. *Conclusion.* Monitoring of natural foci of tularemia confirms the continued preservation of their activity and viability. The transmissive nature of outbreaks causes their scale and intensity, the need for permanent disinsection and deratization measures. The invasion of rodents into populated areas can be considered a predictive sign of the deterioration of the epidemiological situation and the onset of outbreak, which allows taking anti-epidemic measures in advance. Systemic interdepartmental interaction (health care, executive authorities) is needed to strengthen attention to prevention and build up a cautious attitude towards the problem of tularemia.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 6, P. 44—48

Key words: tularemia, outbreak, Khanty-Mansiysk District