

44. Shivachandra S., Rao M., Janosi L. et al. In vitro binding of anthrax protective antigen on bacteriophage T4 capsid surface through Hoc-capsid interactions: a strategy for efficient display of large full-length proteins. *Virology*. 2006, 345 (1): 190-198.
45. Stoeker L., Nordone S., Gunderson S. et al. Assessment of *Lactobacillus gasseri* as a candidate oral vaccine vector. *Clin. Vacc. Immunol.* 2011, 18 (11): 1834-1844.
46. Stokes M., Titball R., Neeson B. et al. Oral administration of a *Salmonella enterica*-based vaccine expressing *Bacillus anthracis* protective antigen confers protection against aerosolized *B. anthracis*. *Infect. Immun.* 2007, 75 (4): 1827-1834.
47. Tan Y., Hackett N., Boyer J., Crystal R. Protective immunity evoked against anthrax lethal toxin after a single intramuscular administration of an adenovirus-based vaccine encoding humanized protective antigen. *Hum. Gene Ther.* 2003, 14 (17): 1673-1682.
48. Tatsis N., Ertl H. Adenoviruses as vaccine vectors. *Mol. Therapy*. 2004, 10 (4): 616-629.
49. Thomas J., Moen S., Gnade B. et al. Recombinant Sindbis virus vectors designed to express protective antigen of *Bacillus anthracis* protect animals from anthrax and display synergy with ciprofloxacin. *Clin. Vacc. Immunol.* 2009, 16 (11): 1696-1699.
50. Tournier J., Mohamadzadeh M. Key roles of dendritic cells in lung infection and improving anthrax vaccines. *Trends Mol. Med.* 2010, 16 (7): 303-312.
51. Wang M., Gao Z., Zhang Z. Roles of M cells in infection and mucosal vaccines. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014, 10 (12): 3544-3551.
52. Wells J. Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli. *Microbial. Cell Factories*. 2011, 10 (Suppl 1): S17.
53. Xu D., Cisar J., Poly F. Genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhi oral vaccine strain Ty21a. *Genome Announc.* 2013, 1 (4): e00650-13.
54. Zhang J., Jex E., Feng T. et al. An adenovirus-vectored nasal vaccine confers rapid and sustained protection against anthrax in a single-dose regimen. *Clin. Vacc. Immunol.* 2013, 20 (1): 1-8.

*Поступила 15.06.15*

Контактная информация: Попова Полина Юрьевна, к.м.н.,  
410005, Саратов, ул. Университетская, 46, р.т. (845-2)26-21-31

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

*Г.Г.Онищенко<sup>1</sup>, А.Ю.Попова<sup>2</sup>, В.В.Кутырев<sup>3</sup>, Н.И.Смирнова<sup>3</sup>,  
С.А.Щербакова<sup>3</sup>, Э.А.Москвитина<sup>4</sup>, С.В.Титова<sup>4</sup>*

## **АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА, ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

<sup>1</sup>Российская академия наук, Москва; <sup>2</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва; <sup>3</sup>Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов; <sup>4</sup>Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт

Обсуждаются основные проблемы действующей в Российской Федерации системы эпидемиологического надзора за холерой, а также лабораторной диагностики и вакцинопрофилактики этой особо опасной инфекции, которые возникли в современный период текущей 7 пандемии холеры. Рассматриваются также особенности генома природных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, имеющих потенциальную эпидемическую опасность, а также вопросы, возникшие при выделении таких штаммов из проб воды поверхностных водоемов при их мониторинге. Основные направления совершенствования системы эпидемиологического надзора за холерой состоят в разработке нового алгоритма дифференциации административных территорий РФ по типам эпидемических проявлений, а также оптимизации мониторинга объектов окружающей среды. Для повышения эффективности проводимой оперативной и ретроспективной диагностики в современный период необходимо внедрение в практику современных высокоинформативных техноло-

гий, а также разработка диагностических препаратов нового поколения на основе ДНК-чипов и иммуночипов. Требуется также создание отечественной холерной вакцины, обеспечивающей одновременную защиту от возбудителя холеры как O1, так и O139 серогруппы.

Журн. микробиол., 2016, № 1, С. 89—101

Ключевые слова: холера, эпидемиологический надзор, районирование, мониторинг вибриофлоры, потенциально эпидемически опасные штаммы, SNR-типирование, лабораторная диагностика, мультилокусные ПЦР тест-системы, холерные вакцины

G.G.Onischenko<sup>1</sup>, A.Yu.Popova<sup>2</sup>, V.V.Kutyrev<sup>3</sup>, N.I.Smirnova<sup>3</sup>,  
S.A.Scherbakova<sup>3</sup>, E.A.Moskvitina<sup>4</sup>, S.V.Titova<sup>4</sup>

#### ACTUAL PROBLEMS OF EPIDEMIOLOGIC CONTROL, LABORATORY DIAGNOSTICS AND PROPHYLAXIS OF CHOLERA IN RUSSIAN FEDERATION

<sup>1</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow; <sup>2</sup>Federal Service for Surveillance on Consumer Rights' Protection and Human Wellbeing, Moscow; <sup>3</sup>Russian Research Institute for Plague Control «Microbe», Saratov; <sup>4</sup>Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia

Main problems of system of epidemiologic control for cholera active in Russian Federation, as well as laboratory diagnostics and vaccine prophylaxis of this especially dangerous infection, that had emerged in the contemporary period of the ongoing 7<sup>th</sup> pandemic of cholera, are discussed. Features of the genome of natural strains of *Vibrio cholerae* of *El Tor* biovar, that possess a potential epidemic threat, as well as problems, that have emerged during isolation of these strains from samples of water of surface water bodies during their monitoring, are also examined. The main direction of enhancement of the system of epidemiologic control for cholera consist in development of a new algorithm of differentiation of administrative territories of Russian Federation by types of epidemic manifestations, as well as optimization of monitoring of environment objects. Integration of modern highly informative technologies into practice, as well as development of new generation diagnostic preparations based on DNA-chips and immunechips is necessary to increase effectiveness of the conducted operative and retrospective diagnostics in the contemporary period. Creation of national cholera vaccine, ensuring simultaneous protection from cholera causative agents of both O1 and O139 serogroups, is also required.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 1, P. 89—101

Key words: cholera, epidemiologic control, zoning, vibrioflora monitoring, potentially epidemic dangerous strains, SNR-typing, laboratory diagnostics, multilocus PCR test systems, cholera vaccines

Продолжающиеся эпидемические вспышки и крупные эпидемии холеры в Юго-Восточной Азии, Африке и Америке, наносящие значительный социально-экономический ущерб, свидетельствуют о том, что холера остается одной из приоритетных проблем мирового здравоохранения [4, 14,15, 20, 33, 50]. Сформированные на этих континентах эндемичные очаги холеры представляют реальную угрозу выноса инфекции за их пределы. Обострение эпидемиологической ситуации по холере в мире обусловлено не только природными и социальными факторами, способствующими активизации эпидемического процесса, но и возникновением в последние два десятилетия новых высокопатогенных геновариантов возбудителя холеры Эль Тор (*Vibrio cholerae* O1 серогруппы Эль Тор биовара) с множественной лекарственной устойчивостью. Глобальное распространение таких измененных штаммов возбудителя, содержащих в составе профага СТХф аллель гена В-субъединицы холерного токсина *V. cholerae* классического биовара, приводит к возникновению затянувшихся вспышек с тяжелым

клиническим течением заболевания [34, 36, 41, 47, 51]. Одним из ярких примеров такой ситуации является продолжающаяся более пяти лет эпидемическая вспышка холеры в Гаити, вызванная занесенным из Непала геновариантом возбудителя холеры Эль Тор [37, 47, 52]. Согласно официальным данным экспертов ВОЗ за более чем 50-летний период (1961 — 2014 гг.) зарегистрировано 7 652 480 случаев холеры в мире, однако реальная заболеваемость может быть значительно выше [25].

Активизация миграционных процессов, увеличение товарооборота, наличие общих границ с неблагополучными по холере странами — все это определяет реальную возможность заноса этой инфекции на территорию Российской Федерации. Непосредственным напоминанием об этой угрозе являются эпидемические вспышки или выявленные единичные случаи холеры в Дагестане (1994 г., 1998 г.), Татарстане (2001 г.), Башкортостане (2004 г.), России (Мурманск, 2006 г.; Москва, 2005, 2010, 2012, 2014 гг.) [22, 25, 30]. Штаммы, выделенные от заболевших, являются высокопатогенными вариантами возбудителя холеры Эль Тор, характерными для эндемичных по холере стран Юго-Восточной Азии [30]. Особую тревогу вызывает обнаружение высокопатогенных вариантов возбудителя холеры в объектах окружающей среды. Так, при мониторинге вибриофлоры поверхностных водоемов в 2005 — 2014 гг. из проб речной (2005, Санкт-Петербург; 2014, Ростов-на-Дону) и морской (2011, Таганрог) воды было выделено три эпидемически опасных штамма *V.cholerae* биовара Эль Тор, содержащих гены ключевых факторов патогенности — холерного токсина (*ctxAB*<sup>+</sup>), определяющего развитие диареи, и токсинорегулируемых пилей (*tcpA*<sup>+</sup>), обеспечивающих колонизацию вибрионами тонкого кишечника человека [39, 42]. Секвенирование полных геномов двух из них, изолированных в Ростовской области, показало, что они относятся к новым геновариантам, совмещающим свойства возбудителя холеры двух биоваров — классического и Эль Тор. На основании ретроспективного эпидемиологического анализа установлено, что за последние 25 лет (1990 — 2014 гг.) в России было зарегистрировано более 3200 больных холерой и вибрионосителей [25].

**Эпидемиологический надзор.** Для своевременной организации противоэпидемической работы в России была разработана система эпидемиологического надзора за холерой. Надзор включает в себя комплекс санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на своевременное выявление заносных случаев холеры, установление возможных источников контаминации поверхностных водоемов и предотвращение распространения этой инфекции на территории Российской Федерации [6, 13, 27, 28]. Эффективность эпиднадзора зависит от своевременного обеспечения системы контроля информацией, необходимой для коррекции стратегии профилактической деятельности и разработки прогнозов эпидемиологической ситуации. В этой связи, в настоящее время одним из важных компонентов надзора является использование созданных проблемно-ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире», «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории», «Холера Эль Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России», а также геоинформационной системы (ГИС) «Холера-Интернет» в онлайн формате, содержащей данные о генетических свойствах штаммов холерного вибриона. Такая ГИС позволяет в режиме реального времени проводить анализ распределения генотипов выделяемых штаммов холерного вибриона во времени и по территориям [19, 20, 25]. Внедрение в практику разработанной системы эпидемиологического надзора имело решающее значение для обеспечения благополучия по холере в стране. Следует отметить, что цель, задачи и основные принципы эпидемиологического надзора за холерой в России согласуются с Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) и отвечают между-

народным требованиям и нормам [16]. Вместе с тем, возросшие в современный период потенциальные и реальные риск и угроза осложнения ситуации по холере указывают на необходимость дальнейшего совершенствования системы эпидемиологического надзора.

Принципиально важным и оправданным в системе эпидемиологического надзора стал разработанный впервые в 1990 г. принцип районирования территории нашей страны по типам эпидемических проявлений холеры с учетом опасности возникновения вспышек и распространения инфекции при ее заносе. Предложенный системный подход, учитывающий природно-климатические, санитарно-гигиенические и социальные условия, а также выраженность миграционных процессов, позволил выделить три основных типа территорий по степени опасности возникновения вспышек и распространения холеры (территории I типа, II типа подтипа А и Б, III типа подтипа А и Б) с соответствующей тактикой эпидемиологического надзора [2, 21, 24, 25]. Внедрение в практику принципа районирования территории страны с целью дифференциации объема проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий позволяет более рационально использовать силы и средства учреждений Роспотребнадзора при осуществлении эпидемиологического надзора. Более того, дифференциация территорий по эпидемическому потенциалу имеет очевидное значение при прогнозе эпидемиологической ситуации. Методика определения эпидемического потенциала административных территорий совершенствовалась с учетом эпидемиологической обстановки, введения новых показателей, характеризующих эпидемические проявления холеры, интенсивность миграции населения, условия водоснабжения и водопользования в соответствии с новыми СанПиН, микробиологических показателей, используемых в системе социально-гигиенического мониторинга, что являлось совершенствованием методологической платформы эпидемиологического надзора за холерой [27, 28].

Вместе с тем, с учетом изменения в последние десятилетия эпидемиологической обстановки по холере, социально-экономических и экологических условий необходимо совершенствование алгоритма определения эпидемического потенциала административных территорий Российской Федерации для отнесения к определенному типу эпидемических проявлений холеры с пересмотром районирования и определением соответствующей тактики эпидемиологического надзора.

Одним из важнейших звеньев эпидемиологического надзора являются целенаправленные исследования вибриофлоры проб воды поверхностных водоемов и сточных вод, прежде всего, для предупреждения водного пути распространения холеры в случае ее завоза. При проведении мониторинга выполняется огромный объем работ по бактериологическому исследованию проб из объектов окружающей среды с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры. Вместе с тем, всесторонний анализ получаемых сведений показывает относительно низкую эффективность микробиологического мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов по сравнению с материальными затратами на его проведение. Так, при обследовании в 2010 — 2014 гг. из около 500 тыс. проб воды было выделено 345 штаммов *V. cholerae* O1серогруппы, что составило 0,07% от общего количества. Среди них токсигенные эпидемически опасные штаммы (ctxAB<sup>+</sup>tcpA<sup>+</sup>) составляют 0,58%, нетоксигенные потенциально эпидемически опасные (ctxAB<sup>-</sup>tcpA<sup>+</sup>) — 5,0%. Оптимизации системы микробиологического мониторинга может быть решена за счет внедрения в практику средств и методов, позволяющих увеличить объем исследуемых проб воды и осуществлять селективное концентрирование холерных вибрионов (в частности, «магнитных ловушек»). Кроме того, принимая во внимание тот факт, что значительная часть популяции холерных вибрионов в водной среде имеет симбиотические связи с гидробионтами план-

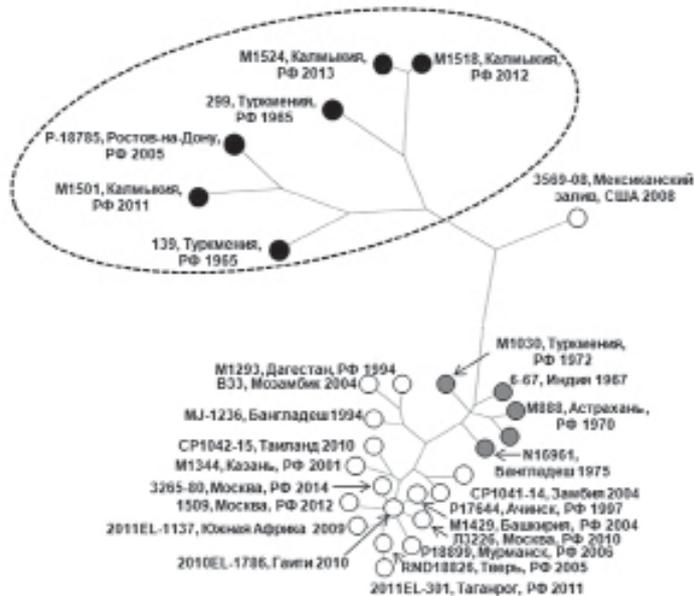
ктона (низшие ракообразные) или находится в составе биопленок [11, 43, 44, 53 — 56], необходимо увеличить количество исследуемых проб зоо- и фитопланктона по эпидпоказаниям. Перспективным является продолжение экспериментальных исследований по оценке роли биопленок холерного вибриона в длительной персистенции возбудителя в водных объектах на территории нашей страны. Полученная информация может быть также использована для оптимизации тактики надзора. К тому же, в зависимости от конкретной ситуации требуется и коррекция стационарных точек отбора воды и кратности ее исследования.

Следует отметить, что существует еще одна проблема, связанная с выделением в ряде регионов в эпидемически благополучный период из воды поверхностных водоемов нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, содержащих гены токсинорегулируемых пилей адгезии (ctxAB<sup>-</sup>tcrA<sup>+</sup>), которые не только обеспечивают колонизацию вибрионами тонкого кишечника человека, но и служат в качестве рецептора для фага СТХф [57]. Поскольку такие штаммы, имеющие указанные пилы, могут быть инфицированы фагом СТХф, несущим гены холерного токсина, их оценивают как штаммы, имеющие потенциальную эпидемическую опасность [45]. О существовании таких штаммов впервые стало известно в 1998 г. после обнаружения их S.M. Faugue et al. [40] среди нетоксигенных клинических изолятов на эндемичной по холере территории. Ранее нами было также показано, что среди исследованных штаммов, изолированных на территории Туркменистана, 42,9% вибрионосителей были инфицированы нетоксигенными штаммами, имеющими ген tcrA. Такие штаммы были обнаружены и в воде поверхностных водоемов, составляя 16,6% от числа изученных [29]. В последние годы штаммы, имеющие потенциальную опасность, были выделены в Ростовской области (2001 — 2002 гг., 2005 г.), в Хабаровском крае (2013 г.), в Республике Калмыкия (2007, 2011 — 2014 гг.) [7, 23]. Обнаружение в воде поверхностных водоемов Российской Федерации штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор с потенциальной эпидемической опасностью ставит ряд вопросов, на которые до сих пор не получены точные ответы. Каково их происхождение? Какова степень риска реверсии их в токсигенные и, следовательно, в эпидемически опасные штаммы на территории Российской Федерации? Есть ли необходимость проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий при выделении штаммов (ctxAB<sup>-</sup>tcrA<sup>+</sup>) из объектов внешней среды?

В этой связи, нами было проведено секвенирование геномов 3 изолированных в 2011 — 2013 гг. в Республике Калмыкия штаммов ctxAB<sup>-</sup>tcrA<sup>+</sup> с последующим анализом полученных результатов. Сопоставление нуклеотидных последовательностей геномов референсного эпидемически опасного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор N16961 и изучаемых штаммов показывает, что в геноме последних отсутствует протяженный участок ДНК, содержащий профаг СТХф с генами холерного токсина, а также профаг RS1ф с генами, усиливающими продукцию этого ключевого фактора патогенности. Вместе с тем в геноме штаммов с потенциальной эпидемической опасностью сохраняется специфический участок (attB-сайт) для внедрения СТХф в хромосому в случае инфицирования их этим фагом. Более того, исследуемые штаммы имеют все гены, необходимые для продукции токсинорегулируемых пилей, а также других дополнительных факторов патогенности. В то же время, в отличие от эпидемически опасных штаммов, вызвавших текущую 7 пандемию холеры, изученные штаммы ctxAB<sup>-</sup>tcrA<sup>+</sup> лишены не только генов холерного токсина, но и полноценных островов пандемичности VSP-I и VSP-II, что обычно характерно для предпандемических штаммов, способных вызывать локальные вспышки, но не имеющих пандемического потенциала.

Далее, для установления филогенетических связей таких штаммов с другими нетоксигенными и токсигенными штаммами, выделенными в различные годы на разных территориях, было проведено их SNP-типирование (рис.). В результате

установлено, что штаммы  $ctxAB^- tcpA^+$ , изолированные на территории Республики Калмыкия, входят в состав клонального комплекса, содержащего потенциально эпидемически опасные штаммы, выделенные в других регионах России (Ростовская область, 2005 г. и Туркмения, 1965 г.), которые также не имеют полноценных островов пандемичности VSP-I и VSP-II. В то же время, штаммы  $ctxAB^- tcpA^+$  генетически были удалены от всех исследованных токсигенных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, изолированных с 1966 по 2012 гг. как на территории РФ, так и за ее пределами (Юго-Восточная Азия, Африка, Америка).



**Филогенетические связи потенциально эпидемически опасных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор  $ctxAB^- tcpA^+$  с токсигенными эпидемически опасными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор  $ctxAB^+ tcpA^+$  (на основе SNP-типирования).**

Пунктиром указан кластер штаммов  $ctxAB^- tcpA^+$ , имеющих потенциальную эпидемическую опасность.

Таким образом, показано, что потенциальная эпидемическая опасность выделенных штаммов  $ctxAB^- tcpA^+$  обусловлена присутствием генов, кодирующих токсинрегулируемые пили, которые обеспечивают колонизацию тонкого кишечника и являются рецептором для фага СТХф, а также наличием в геноме нуклеотидной последовательности для встраивания профага СТХф. Однако точное происхождение потенциально эпидемически опасных штаммов остается неизвестным. Требуется исследование и вопрос о реальной способности штаммов  $ctxAB^- tcpA^+$  приобретать профаг СТХф в окружающей среде на территории РФ. Для решения возникших проблем необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение экологии холерного вибриона с использованием современных методов. Так, одним из перспективных направлений, на наш взгляд, может быть выяснение сроков выживания возбудителя холеры в воде поверхностных водоемов в естественных условиях и изучение фенотипических и генетических изменений, которые претерпевает этот патоген под воздействием различных экологических факторов. Исследования в этом направлении проводились и раньше [5, 18], однако разработанные в настоящее время новые молекулярно-генетические и биохимические методы позволят расширить наши знания по экологии холерных вибрионов. На основании полученных результатов затем следует определить необходимость разработки комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий при выделении штаммов, имеющих потенциальную эпидемическую опасность.

**Лабораторная диагностика холеры.** Одним из ключевых этапов в системе эпидемиологического надзора является лабораторная диагностика холеры, которая осуществляется на основе традиционных микробиологических исследований с использованием основных идентификационных тестов, а также современных технологий. В отличие от зарубежных учреждений, в России разработан и внедрен

в практику трехуровневый порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры: территориальный, региональный и федеральный [17]. В лабораториях территориального и регионального уровня используют методические приемы, позволяющие выделять холерные вибрионы на селективных средах, определять их серогруппу, биовар, эпидемическую значимость и чувствительность к антибиотикам. Несомненным достижением является разработка и внедрение в практику новых отечественных генодиагностических тест-систем, основанных на использовании мультилокусной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Эти ПЦР тест-системы позволяют одновременно определять серогруппу, биовар и эпидемическую значимость холерных вибрионов [1]. Эффективность разработанных и зарегистрированных в России ПЦР тест-систем подтверждена при проведении анализа культур, выделенных во время эпидемических вспышек в Республике Дагестан (1994), Казани (2001) и при единичных завозах холеры.

В лабораториях федерального уровня используется разработанная и зарегистрированная в России мультилокусная ПЦР тест-система, позволяющая одновременно идентифицировать токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* классического и Эль Тор биоваров, а также дифференцировать Эль Тор вибрионы на типичные и высокопатогенные генетически измененные штаммы [31]. Кроме того, проводится секвенирование полных геномов штаммов возбудителя холеры Эль Тор, выделенных от больных и из объектов окружающей среды, для выяснения их происхождения. Так, совсем недавно была определена нуклеотидная последовательность полного генома токсигенного штамма *V. cholerae* 81 биовара Эль Тор серовара Инаба, выделенного из речной воды на территории Ростова-на-Дону в июле 2014 г. На основе биоинформационного анализа установлено, что штамм относится к геновариантам возбудителя холеры Эль Тор, имеющим повышенный эпидемический потенциал. Выявлено также, что этот штамм имеет близкое генетическое родство со штаммом *V. cholerae* 301 биовара Эль Тор серовара Инаба, изолированным из воды Таганрогского залива в 2011 г. [26]. Отсутствие существенных отличий между этим изолятом и эпидемически значимыми штаммами, выделенными в Бангладеш и США (завоз из Индии), указывает на возможный занос указанного штамма из стран Юго-Восточной Азии.

Таким образом, к настоящему времени в России создана эффективная система лабораторной диагностики холеры, которая полностью обеспечена отечественными диагностическими препаратами. Успешное использование методов генной диагностики, позволяющих в максимально короткие сроки проводить индикацию и идентификацию возбудителя холеры, указывает на их ведущее значение при проведении исследований в лабораториях территориального и регионального уровня. Более того, внедрение в практику лабораторий федерального уровня полногеномного секвенирования штаммов холерного вибриона, выделенных на территории России, с последующим биоинформационным анализом полученных данных позволяет определить их филогенетические связи и установить возможный источник заноса инфекции.

Вместе с тем, очевидна необходимость оптимизации схемы лабораторной диагностики холеры, направленная на сокращение используемых методических приемов. В настоящее время в соответствии с МУК «Лабораторная диагностика холеры» [12] схема идентификации холерных вибрионов включает более 40 тестов, которые зачастую дублируют определяемый признак. Так, определение биовара выделенных штаммов холерных вибрионов осуществляется с помощью пяти различных методов, а установление их эпидемической значимости — четырех. На основании всестороннего анализа используемой до сих пор схемы, а также информативности каждого методического приема показана целесообразность сокращения применяемых методов до 12. В итоге предлагается включение в схему лабораторной диагностики холеры следующих тестов: выделение культуры холер-

ного вибриона на селективных средах; морфология клеток в мазке по Граму; определение индофенолоксидазы; определение антигенной структуры в реакциях слайд- и развернутой агглютинации, МФА (метод флуоресцирующих антител), ИХ (иммунохроматография); определение систематического положения (рода, вида) классическим методом или с использованием микрообъемных тест-систем; определение биовара методом ПЦР; определение эпидемической значимости методом ПЦР и гемолиза по Грейгу; определение чувствительности к антибактериальным препаратам.

Кроме того, в качестве дополнительных тестов предлагается секвенирование отдельных генов или полных геномов, проведение MALDI-TOF масс-спектрометрии [3, 32] и определение продукции холерного токсина с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) или дот-ИФА. В этой связи, необходимо разработать и зарегистрировать новые диагностические препараты, необходимые для осуществления исследований в соответствии с предлагаемой схемой: иммунохроматографические системы для выявления O1 и O139 антигенов холерных вибрионов в клиническом материале; набор реагентов для определения биовара холерных вибрионов вне зависимости от их токсигенности методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени; тест-систему для определения продукции холерного токсина штаммами холерных вибрионов методом ИФА или дот-ИФА. Более того, для проведения ретроспективной диагностики требуется создание тест-системы для определения антител к антигенам холерного вибриона, в том числе и к холерному токсину, методом ИФА.

Эффективность диагностики может быть повышена и за счет широкого внедрения в практику лабораторий федерального уровня современных высокоинформативных диагностических технологий, в частности MALDI-TOF масс-спектрометрии. Масс-спектрометрический анализ основан на предварительной ионизации атомов и молекул, входящих в состав пробы, разделении ионов исследуемого вещества в вакууме под действием 46 электрических и магнитных полей и регистрации результатов в виде масс-спектров [3, 32]. В настоящее время этот метод успешно используется в ряде учреждений Роспотребнадзора для быстрой идентификации холерных вибрионов и других микроорганизмов рода *Vibrio* [32]. Важным направлением в дальнейшей работе является также разработка и внедрение в практику диагностических препаратов нового поколения на основе ДНК-чипов, иммуночипов и нанотехнологий. Еще одно направление совершенствования молекулярной диагностики холеры — это создание национальной базы данных о генетических последовательностях различных штаммов возбудителя холеры на базе Государственных коллекций высокопатогенных микроорганизмов. Такая база данных об особенностях геномов штаммов, выделенных при разных эпидемических ситуациях, позволит повысить эффективность геномного анализа при решении ряда задач эпидемиологического надзора.

Не менее значимыми остаются вопросы комплементарности действующей нормативно-методической документации по эпидемиологическому надзору за холерой, однозначности трактовки полученных результатов исследований и принятия решений о проведении противоэпидемических мероприятий.

**Вакцинопрофилактика.** Неустойчивая эпидемиологическая обстановка по холере в мире и в России определяет необходимость разработки и производства современных и надежных национальных средств и методов специфической иммунопрофилактики холеры. Согласно официальной стратегии ВОЗ для предотвращения возникновения эпидемий холеры вне эндемичных территорий рекомендуется использование оральных холерных вакцин (ОХВ) для вакцинации контингентов с высоким риском инфицирования (население лагерей беженцев, лиц без определенного места жительства и т.д.), а также путешественников и туристов.

В настоящее время существуют две, получившие одобрение ВОЗ, оральные холерные вакцины.

Оральная холерная вакцина Ducoral® (WC/rBS) (SBL, Швеция), которая состоит из убитых клеток четырех штаммов *V. cholerae* O1 классического и Эль Тор биоваров, относящихся к сероварам Инаба или Огава, с рекомбинантной В-субъединицей холерного токсина [48, 49]. Эта вакцина обеспечивает некоторый уровень перекрестной защиты от энтеротоксигенных штаммов *Escherichia coli* (ETEC), что представляет дополнительное преимущество для путешественников. Согласно данным ВОЗ, полевые испытания в Бангладеш и Перу показали, что эта вакцина безопасна и обеспечивает 85% защиту в течение 4 — 6 месяцев во всех возрастных группах [46, 48]. Вакцина лицензирована более чем в 60 странах мира [48].

Оральная холерная вакцина Shanchol (Shantha Biotechnics, Индия), состоящая из убитых клеток четырех штаммов *V. cholerae* O1 классического и Эль Тор биоваров сероваров Инаба или Огава, также убитых клеток *V. cholerae* O139 серогруппы. Вакцина Shanchol обеспечивала защиту 67% привитых от холеры, вызванной клинически значимыми штаммами *V. cholerae* в эндемичных районах не менее чем в течение двух лет после вакцинации. Полевые испытания в Калькутте (Индия) показали протективную эффективность вакцины (65%) во всех возрастных группах [35]. Вакцина лицензирована в Индии, Филиппинах, Непале, Малайзии и Кот-д'Ивуаре. Доказано, что ОХВ безопасны, иммуногенны и эффективны. Обе вакцины использовались в кампаниях по массовой вакцинации, проводимых при поддержке ВОЗ (Южный Судан, Гаити, 2014 г.), что позволило получить новые свидетельства в пользу применения оральных противохолерных вакцин в качестве дополнительного средства защиты населения, подвергающегося высокому риску инфицирования возбудителем холеры [48, 38].

В Российской Федерации на базе РосНИПЧИ «Микроб» имеется лицензированное на национальном уровне производство таблетированной формы вакцины холерной бивалентной химической. Эта вакцина является основным препаратом для специфической профилактики холеры в стране и представляет собой таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой и содержащие основные протективные антигены *V. cholerae* O1 серогруппы классического биовара холерогенанатоксин, O1-антиген сероваров Инаба и Огава, различные ферменты [8, 9, 10]. Вакцинацию проводят перорально однократно. Одна прививочная доза для взрослых составляет три таблетки, для детей в возрасте от 2 до 10 лет — одна таблетка, от 11 до 17 лет — две таблетки. Вакцина обеспечивает у привитых выработку гуморального противохолерного антибактериального и антитоксического иммунитета длительностью до 6 месяцев. Эта отечественная вакцина включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям, предусматривающим проведение вакцинации у лиц, выезжающих в неблагополучные по холере страны, и населению приграничных районов России в случае неблагоприятной по холере обстановки (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации №51н от 31.01.2011 г.).

Вместе с тем, до сих пор отсутствуют отечественные комплексные вакцины, обеспечивающие одновременную защиту от эпидемически опасных штаммов *V. cholerae* двух серогрупп — O1 и O139. Более того, для производства химических холерных вакцин используют высоковирулентные штаммы, применение которых требует больших материальных затрат для обеспечения биологической безопасности. В этой связи, разработка вакцинных препаратов нового поколения, а также создание универсальной технологии их производства является важным и перспективным направлением научных исследований.

Еще один важный вопрос — это роль фундаментальных исследований в дей-

ствующей системе эпидемиологического надзора, которая включает в себя организацию постоянного мониторинга за холерой, что необходимо для коррекции стратегии профилактических мероприятий и разработки прогнозов эпидемиологической ситуации. В этой связи, мониторинг может осуществляться путем слежения за динамикой изменения важнейших биологических свойств возбудителя, значимых для его диагностики и эпидемической опасности, а также влияющих на развитие эпидемического процесса. Современные технологии (секвенирование полных геномов и отдельных генов возбудителя, молекулярное типирование, ПЦР-тестирование генома, масс-спектрометрия, иммуноферментный анализ и т. д.) открывают новые возможности более тонких исследований молекулярно-генетической структуры клинических и выделяемых из водной среды штаммов, на основе которых дается более объективная оценка их роли в эпидемическом процессе. При сравнении полных геномов штаммов возбудителя холеры, выделенных в разные временные периоды, получена также принципиально новая возможность определять направление и время изменения участков генома возбудителя, связанных с его патогенным и эпидемическим потенциалом, что используется для прогнозирования возникновения новых вариантов с ранее неизвестными свойствами. Более того, полученная информация о молекулярно-генетических особенностях изолированных на территории России штаммов является основой для разработки адекватных современной ситуации диагностических и профилактических препаратов. Успешное использование результатов изучения молекулярно-генетических особенностей изолятов при оценке эпидемиологической значимости свежевыделенных штаммов из воды поверхностных водоемов, разработка новых диагностических ПЦР тест-систем, конструирование авирулентных штаммов-продуцентов протективных антигенов, выявление филогенетических связей исследуемых штаммов для установления источника заноса — все это свидетельствует о несомненно важной роли фундаментальных исследований в различных звеньях системы эпидемиологического надзора.

Таким образом, существующий риск завоза холеры и возникновения эпидемиологических осложнений по этой инфекции в России в современный период требует решения ряда основных проблем, направленных на совершенствование действующей системы эпидемиологического надзора за холерой, лабораторной диагностики и вакцинопрофилактики. Как уже отмечалось выше, несомненным достижением системы эпидемиологического надзора является разработанный в 1990 г. принцип районирования территорий страны по эпидемическим проявлениям холеры с последующим совершенствованием, который позволил повысить эффективность проводимых противоэпидемических мероприятий. Вместе с тем, изменение социально-экономической, экологической и эпидемиологической ситуации в различных регионах России, а также появление новых инструментов для исследования геномов выделяемых штаммов, в частности, полногеномного секвенирования для установления их происхождения, свидетельствуют о необходимости дальнейшего совершенствования системы эпиднадзора за холерой. Основные направления оптимизации системы эпидемиологического надзора за холерой состоят в совершенствовании определения эпидемического потенциала административных территорий с учетом их географического положения, эпидемических проявлений холеры, природных и социальных условий, демографических показателей; совершенствовании действующего алгоритма дифференциации административных территорий РФ по эпидемическому потенциалу; пересмотре районирования субъектов страны по типам эпидемических проявлений с соответствующей тактикой надзора, в том числе при мониторинге объектов окружающей среды с изучением особенностей геномов выделяемых холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, что должно быть учтено при переработке санитарно-

эпидемиологических правил. Для повышения эффективности проводимой оперативной и ретроспективной диагностики в современный период необходимо внедрение в практику современных высокоинформативных технологий, а также разработка диагностических препаратов нового поколения на основе ДНК-чипов и иммуночипов. Требуется также проведение работы по совершенствованию состава используемой холерной вакцины и созданию новых вакцинных препаратов, обеспечивающих одновременную защиту от эпидемически опасных штаммов холерного вибриона двух серогрупп — О1 и О139. Успешная реализация поставленных разноплановых задач будет способствовать решению проблемы эпидемиологического благополучия и биологической безопасности на территории Российской Федерации.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитова А.С., Яцышина С.Б., Осина Н.А., Астахова Т.С., Портенко С.А., Саяпина Л.В., Шипулин Г.А., Щербакова С.А. Разработка мультилокусных амплификационных тест-систем для выявления и ускоренной идентификации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов. *Биозащита и биобезопасность*. 2014, 2 (19): 34-41.
2. Актуальные проблемы холеры. Под ред. В.И. Покровского, Г.Г. Онищенко. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2000.
3. Афанасьев М.В., Миронова Л.В., Балахонов С.В. MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ для идентификации возбудителей чумы, холеры и туляремии. *Молекул. генетика*. 2015, 33: 3-8.
4. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. М.: Медицина, 1971.
5. Бароян О.В., Бургасов П.Н., Гайлонская И.Н., Мединский Г. М. Экология холерных вибрионов. *Вестн. РАМН СССР*. 1975, 2: 45-53.
6. Беляков В.Д. Эпидемиологический надзор — основа современной организации противоэпидемической работы. *Журн. микробиол.* 1985, 5: 53-58.
7. Гриднева Л.Г., Мусатов Ю.С., Громова Т.В., Пуховская Н.М., Белозерова Н.Б., Уткина О.М., Иванов Л.И., Ковальский А.Г., Миронова Л.В., Куликалова Е.С., Хунхеева Ж.Ю., Балахонов С.В. Результаты мониторинга и биологические свойства холерных вибрионов, изолированных из объектов окружающей среды на территории Хабаровского края. *Пробл. особо опасных инф.* 2014, 1: 121-124.
8. Джапаридзе М.Н., Никитина Г.П., Иванов Н.Р., Рысцова Е.А., Удалова И.Б., Караева Л.П. Биохимическая и иммунохимическая характеристика новой оральной холерной химической бивалентной вакцины и результаты испытания препарата на добровольцах. *Журн. микробиол.* 1982, 1: 29-33.
9. Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Мелешенко М.В., Никитина Г.П. Способ получения пероральной химической вакцины. Патент №93034443/14 от 01.07.93 г.
10. Комисаров А.В., Еремин С.А., Задохин С.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Новые подходы в технологии получения таблетки вакцины холерной бивалентной химической. *Биофармацевтический журн.* 2015, 1: 30-39.
11. Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Сарро С.Г., Миронова Л.В., Марков Е.Ю., Мальник В.В., Корзун В.М., Миткеева С.К., Балахонов С.В. Биопленка холерного вибриона: получение, характеристика и роль в резервации возбудителя в водной окружающей среде. *Журн. микробиол.* 2015, 1: 3-11.
12. Лабораторная диагностика холеры: методические указания МУК 4.2.2218-07. М., Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007.
13. Марамович А.С., Ганин В.С., Урбанович Л.Я., Погорелов В.И. Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за холерой. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1999, 5: 54-56.
14. Марамович А.С., Погорелов В.И., Урбанович Л.Я., Шкаруба Т.Т. Холера эльтор в Латинской Америке. *Журн. микробиол.* 2001, 5: 82-90.
15. Марамович А.С., Урбанович Л.Я., Миронова Л.В., Куликалова Е.С. Эволюция эпидемиологии холеры. *Журн. микробиол.* 2006, 6: 63-71.
16. Международные медико-санитарные правила (2005). Всемирная организация здравоохранения, Женева. 2006.
17. Методические указания «Порядок организации и проведения лабораторной диагно-

- стики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней». МУК 4.2.2870-11. М., 2011.
18. Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Квасов Е.М., Брудный Р.А., Монахова Е.В., Левкович А.А., Сердюкова В.Д., Косолева Л.А., Невенчанная Л.В., Капустина М.Д. Изучение эпидемической значимости холерных вибрионов, выделенных из различных экологических систем. Журн. микробиол. 1990, 8: 62-66.
  19. Москвитина Э.А., Анисимова Г.Б., Беспалов И.А. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2003620048. Холера Эль Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России. М., 2003.
  20. Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Иванова С.М., Анисимова Г.Б. Холера: эпидемиологическая обстановка в мире в 2005-2014 гг., прогноз на 2015 г. Пробл. особо опасных инф. 2015, 1: 18-25.
  21. Наркевич М.И., Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Н.А., Подосинникова Л.С., Мединский Г.М., Голубев Б.П. Типы эпидемических проявлений холеры в СССР. Журн. микробиол. 1991, 8: 33-35.
  22. Онищенко Г.Г., Беляев Е.Н., Москвитина Э.А., Резайкин В.И., Ломов Ю.М., Мединский К.М. Холера в Дагестане: прошлое и настоящее. Ростов-на-Дону, 1995.
  23. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Воляницкая С.Ю., Прометной В.И., Монахова Е.В., Водопьянов С.Ю., Дудина Н.А. Холера, обусловленная *Vibrio cholerae* O1 ctxAB<sup>-</sup> tcpA<sup>+</sup>. Журн. микробиол. 2007, 1: 23-29.
  24. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Жилина Н.Я., Подосинникова Л.С. Эпидемиологический надзор за холерой: обоснования к оценке его эффективности. Пробл. особо опасных инф. 2005, 1 (89): 5-9.
  25. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титова С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии. Вестник РАМН. 2015, 70 (2): 249-256.
  26. Писанов Р.В., Ежова М.И., Монахова Е.В., Черкасов А.В., Краснов Я.М., Водопьянов А.С., Кульшань Т.А., Ливанова Л.Ф., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Кругликов В.Д., Титова С.В. Особенности структуры генома токсигенного штамма *Vibrio cholerae* El Tor Инаба, выделенного в 2014 г. из открытого водоема в Ростове-на-Дону. Пробл. особо опасных инф. 2015, 2: 63-67.
  27. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации. СП 3.1.1.2521-09. М., 2009.
  28. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой. СП 3.1.1086-02. М., 2002.
  29. Смирнова Н.И., Костромитина Е.А., Челдышова Н.Б., Кутырев В.В. Отличия в составе генов вирулентности в штаммах *Vibrio cholerae* Eltor, выделенных из разных источников на территории Туркменистана. Молекул. генетика. 2002, 4: 12-18.
  30. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в разные периоды 7 пандемии холеры. Журн. микробиол. 2011, 3: 3-10.
  31. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Шубина А.В., Заднова С.П., Кутырев В.В. Способ идентификации токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, определения их биовара и дифференциации штаммов биовара эльтор на типичные и измененные методом мультиплексной полимеразной цепной реакции и тест-система для его осуществления. Патент №2458141 от 05.03.2012 г.
  32. Спицын А.Н., Уткин Д.В., Куклев В.Е., Портенко С.А., Германчук В.Г., Осина Н.А. Применение MALDI масс-спектрометрии в диагностике особо опасных инфекционных болезней: современное состояние и перспективы. Пробл. особо опасных инф. 2014, 3: 77-82.
  33. Холера в СССР в период седьмой пандемии. Под ред. В.И. Покровского. М.: Медицина, 2000.
  34. Anzaruzzaman M., Bhuiyan N., Safa A. et al. Genetic diversity of El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 with hybrid traits isolated from Bangladesh and Mozambique. Int. J. Med. Microbiol. 2007, 297: 443-449.
  35. Bhattacharya S., Sur D., Ali M. et al. 5 Year efficacy of a bivalent killed whole-cell oral cholera

- vaccine in Kolkata, India: a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* 2013, 13: 1050-1056.
36. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Bacclu D. et al. New *V. cholerae* atypical El Tor variant emerged during the 2006 epidemic outbreak in Angola. *BMC Microbiol.* 2011, 11: 130.
  37. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B. et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011, 364 (1): 33-42.
  38. Ciglenecki I., Sakoba K., Luquero F. et al. Feasibility of mass vaccination campaign with oral cholera vaccines in response to an outbreak in Guinea. *PLoS Med.* 2013, 10: e1001512.
  39. Davis B.M., Waldor M.K. Filamentous phages linked to virulence of *Vibrio cholerae*. *Current Opinion in Microbiology.* 2003, 6: 35-42.
  40. Faruque S.M., Asadulghani, Saha M.N. et al. Analysis of clinical and environmental strains of nontoxicogenic *Vibrio cholerae* for susceptibility to CTX $\phi$ : molecular basis for origination of new strains with epidemic potential. *Infect. Immun.* 1998, 66: 5819-5825.
  41. Goel A.K., Jain M., Kumar P. et al. Molecular characterization reveals involvement of altered El Tor biotype *Vibrio cholerae* O1 strains in cholera outbreak at Hyderabad, India. *J. Microbiol.* 2011, 49 (2): 280-284.
  42. Herrington D.A., Hall R.H., Losonsky G. et al. Toxin, toxin-coregulated pili, and the toxR-regulon are essential for *Vibrio cholerae* pathogenesis in humans. *J. Exp. Med.* 1988, 168: 1487-1492.
  43. Huq A., Small E.B., West P.A. et al. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl. Environm. Microbiol.* 1983, 45 (1): 275-283.
  44. Islam M.S., Jahid M.I., Rahman M.M. et al. Biofilm acts as a microenvironment for plankton-associated *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Bangladesh. *Microbiol. Immunol.* 2007, 51: 369-379.
  45. Karaolis D.K., Somara S., Maneval D.R., Jr. et al. A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria. *Nature.* 1999, 399: 375-379.
  46. Khan I., Saha A., Chowdhury F. et al. Coverage and cost of a large oral cholera vaccination program in a high-risk cholera endemic urban population in Dhaka, Bangladesh. *Vaccine.* 2013, 31: 6058-6064.
  47. Kim E.J., Lee D., Moon S.H. et al. Molecular insights into the evolutionary pathway of *Vibrio cholerae* O1 atypical El Tor variants. *PLoS.* 2014, 10: e1004384.
  48. Lopez A.L., Gonzales M.L.A., Aldaba J.G., Nair G.B. Killed oral cholera vaccines: history, development and implementation challenges. *Ther. Adv. Vaccines.* 2014, 2 (5): 123-136.
  49. Lucas M., Deen J., Von Seidlein L. et al. Effectiveness of mass oral cholera vaccination in Beira, Mozambique. *N. Engl. J. Med.* 2005, 352: 757-767.
  50. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R. The seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011, 477: 462-465.
  51. Nair G.B., Qardi F., Holmgren J. et al. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44 (11): 4211-4213.
  52. Rebaudet S., Piarroux R. Monitoring water sources for environmental reservoirs of toxigenic *Vibrio cholerae* O1, Haiti. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, 21 (1): 169-170.
  53. Tamplin M.L., Gauzens A.L., Huq A. et al. Attachment of *Vibrio cholerae* serogroup O1 to zooplankton and phytoplankton of Bangladesh waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990, 56: 1977-1980.
  54. Teschler J.K., Zamorano-Sanchez D., Utada A.S. et al. Living in the matrix: assembly and control of *Vibrio cholerae* biofilms. *Nature Reviews Microbiology.* 2015, 13: 255-268.
  55. Thom S., Warhurst D., Drasar B.S. Association of *Vibrio cholerae* with fresh water amoebae. *J. Med. Microbiol.* 1992, 36 (5): 303-306.
  56. Utada A.S., Bennet R.R., Fong J.C. *Vibrio cholerae* use pili and flagella synergistically to effect motility switching and conditional surface attachment. *Nature Commun.* 2014, 5: 4913.
  57. Waldor M.K., Mekalanos J.J. Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science.* 1996, 272: 1910-1914.

*Поступила 15.08.15*

Контактная информация: Смирнова Нина Ивановна, д.б.н., проф.,  
410005, Саратов, ул. Университетская, 46, р.т. (8452)26-47-23

© А.Б.ЖЕБРУН, О.В.КАЛИНИНА, 2016

А.Б.Жебрун, *О.В.Калинина*

## **ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ С: ЭВОЛЮЦИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА, ЭВОЛЮЦИЯ ВИРУСА**

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

На основании результатов филогенетических, филогеографических, исторических и демографических исследований приводится периодизация эволюции эпидемического процесса гепатита С: вторжение вируса в европейскую и северо-американскую популяцию в 1700 — 1850 годы; первичная активизация эпидемического процесса в годы I Мировой войны; экспансивный рост распространенности в 40 — 60-е годы XX в. вследствие массовых парентеральных вмешательств; новый подъем, связанный с героиновой наркоманией в 60 — 80-е годы XX в.; многократное снижение инцидентности острого гепатита С в индустриальных странах за последние 10 — 15 лет в результате общемедицинских мер предупреждения гемоконтактных инфекций. Обсуждается вопрос о возможности управления гепатитом С и необходимости оценки эффективности существующих мер профилактики с привлечением количественных аналитических методов эпидемиологии. Приводятся данные филогенетических исследований об этапах эволюции вируса гепатита С (ВГС): разделение его корневой генетической линии с гомологичными гепасивирусами животных 985 — 2013 лет назад; разделение ВГС на генотипы 500 — 2000 лет назад; разделение генотипов на субтипы 70 — 300 лет назад. Обсуждается вклад мутаций и генетических рекомбинаций в эволюцию ВГС. Констатируется, что генотипирование оказалось малопродуктивным подходом для определения детерминант патогенности, иммунного ускользания, неотвечаемости на терапию, а также для поиска предикторов исхода инфекции. Обосновывается необходимость геномного подхода для этих целей, а также для мониторинга риска, вытекающего из продолжающейся эволюции и биоразнообразия ВГС и других гепасивирусов.

Журн. микробиол., 2016, № 1, С. 102—112

Ключевые слова: вирус гепатита С, таксономия, эпидемический процесс, эволюция

A.B.Zhebrun, *O.V.Kalinina*

## **VIRAL HEPATITIS C: EVOLUTION OF THE EPIDEMIOLOGIC PROCESS, EVOLUTION OF THE VIRUS**

Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St.-Petersburg, Russia

Periodization of the evolution of epidemic process of hepatitis C is given based on the results of phylodynamic, phylogeographic, historic and demographic studies: invasion of the virus into European and North American population in 1700 — 1850; primary activation of the epidemic process in the years of the World War I; expansive growth of prevalence in 40 — 60s of the 20th century due to mass parenteral interventions; new rise due to heroine drug abuse in 60 — 80s of the 20th century; manifold reduction of incidence of acute hepatitis C in industrial countries for the last 10 — 15 years as a result of general medical measures of prevention of hemocontact infections. A problem of possibility of hepatitis C management and necessity of evaluation of effectiveness of existing prophylaxis measures involving quantitative analytical methods of epidemiology is discussed. Data from phylogenetic studies on stages of hepatitis C virus evolution (HCV) are provided: division of its root genetic lineage with homologous hepaciviruses of animals 985 — 2013 years ago; division of HCV into genotypes 500 — 2000 years ago; division of genotypes into subtypes 70 — 300 years ago. Contribution of mutations and genetic recombinations into HCV evolution