

10. Hermann M., Bogunovic D. ISG15: in sickness and in health. Trends Immunol. 2017, 38:79-93. 10.1016/j.it.2016.11.001.
11. Le Souef P. Viral infections in wheezing disorders. Eur. Respir. Rev. 2018, 27 (147). Pii: 170133. doi: 10.1183/16000617.0133-2017.
12. Makris S., Paulsen M., Johansson C. Type I Interferons as Regulators of Lung Inflammation. Front. Immunol. 2017, 8:259. doi: 10.3389/fimmu.2017.00259.
13. Masoli M., Fabian D., Holt S., Beasley R. Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. Allergy. 2004, 59(5):469-478. DOI:10.1111/j.1398-9995.2004.00526.x.
14. Radke J.R., Cook J.L. Human adenovirus infections: update and consideration of mechanisms of viral persistence. Curr. Opin. Infect. Dis. 2018. Doi: 10.1097/QCO.0000000000000451.
15. Sampson D.L., Fox B.A., Yager T.D. et al. A Four-Biomarker Blood Signature Discriminates Systemic Inflammation Due to Viral Infection Versus Other Etiologies. Sci. Rep. 2017, 7(1):2914. doi: 10.1038/s41598-017-02325-8.

Поступила 18.12.18

Контактная информация: Оспельникова Татьяна Петровна, к.м.н.,  
105064, Москва, М. Казенный пер., 5а, р.т. (495)917-49-00

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*А.Ю. Попова<sup>1</sup>, А.Н. Куличенко<sup>2</sup>, А.С. Волынкина<sup>2</sup>, И.В. Кузнецова<sup>2</sup>, А.Т. Подколзин<sup>3</sup>, Е.В. Чехвалова<sup>4</sup>,  
В.Г. Оробей<sup>5</sup>*

## **ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ГЕНОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЕГИОНА СОЧИ В ПЕРИОД ПОДГОТОВКИ И ПРОВЕДЕНИЯ ЧЕМПИОНАТА МИРА ПО ФУТБОЛУ FIFA-2018**

<sup>1</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва; <sup>2</sup>Ставропольский противочумный институт; <sup>3</sup>Центральный НИИ эпидемиологии, Москва; <sup>4</sup>Сочинский филиал Центра гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае; <sup>5</sup>Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г. Сочи

При подготовке к проведению чемпионата мира по футболу FIFA-2018 в 2015-2017 гг. определены генетические особенности региональных штаммов-патогенов в г. Сочи. Типированы штаммы и изоляты нуклеиновых кислот возбудителей инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы — ОКИ: рота-, норо-, астро и энтеровирусов, Salmonella enteritidis, природно-очаговых инфекций: хантавирусов, риккетсий группы КПЛ, боррелий. В результате осуществлено комплексное генетическое профилирование актуальных для региона г. Сочи вариантов возбудителей инфекций. Полученная база данных использована для обеспечения молекулярного анализа штаммов-патогенов в период проведения XIX Международного фестиваля молодежи и студентов (2017 г.) и во время проведения чемпионата мира по футболу (2018 г.). Показана перспектива использования данного алгоритма генетического анализа при расшифровке вспышек (случаев) инфекционных болезней на конкретных территориях.

Журн. микробиол., 2019, № 3, С. 54—59

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ, острые кишечные инфекции, природно-очаговые инфекции, чемпионат мира по футболу, Сочи

A.Yu. Popova<sup>1</sup>, A.N. Kulichenko<sup>2</sup>, A.S. Volynkina<sup>2</sup>, I.V. Kuznetsova<sup>2</sup>, A.T. Podkolzin<sup>3</sup>, E.V. Chekhvalova<sup>4</sup>, V.G. Orobey<sup>5</sup>

## THE APPLICATION OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS AND GENOMIC PROFILING OF INFECTIOUS DISEASES CAUSATIVE AGENTS IN SOCHI DURING THE PREPARATION AND HOLDING OF THE FIFA WORLD CUP 2018

<sup>1</sup>Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow; <sup>2</sup>Stavropol Research Institute for Plague Control; <sup>3</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow; <sup>4</sup>Center of Hygiene and Epidemiology in Krasnodar Territory (Sochi Branch); <sup>5</sup>Territorial Department of Rospotrebnadzor in Krasnodar Territory, Sochi, Russia

During the preparation of the FIFA World Cup 2018 in 2015-2017 genetic features of regional pathogenic strains in the city of Sochi are determined. The strains and nucleic acid isolates of bacterial and viral infectious diseases causative agents — acute intestinal infections: rota-, noro-, astro and enteroviruses, *Salmonella enteritidis*, natural focal infections: hantaviruses, *Rickettsia* of tick spotted fevers group, *Borrelia* are genotyped. In result, complex genetic profiling of infection diseases causative agents variants that are actual for the Sochi region has been carried out. The obtained database was used to provide molecular analysis of pathogens during the XIX International Festival of Youth and Students (2017) and during the FIFA World Cup (2018). The perspective of using this algorithm of genetic analysis in description of outbreaks (cases) of infectious diseases in specific areas is shown.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 3, P. 54—59

Key words: molecular genetic analysis, acute intestinal infections, natural focal infections, FIFA World Cup 2018, Sochi

Качественное проведение эпидемиологического расследования вспышек и случаев инфекционных болезней, мониторинга их возбудителей, прогнозирование возможных осложнений эпидемиологической обстановки сегодня невозможно без эффективной системы генетического анализа штаммов возбудителей инфекций.

В последние годы в системе эпидемиологического надзора широкое практическое применение получили молекулярно-генетические методы, с помощью которых на основании сравнительного анализа геномных портретов можно установить источник инфекции, дифференцировать эндемичные для данной территории и заносные штаммы, выявить генетические маркеры патогенности. Наибольшее распространение для генотипирования возбудителей инфекционных болезней получили мультилокусный анализ вариабельного числа tandemных повторов (MLVA), мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), электрофорез в пульсирующем поле (PFGE), секвенирование участков генома по Сэнгеру. С целью получения полной информации о генетической структуре возбудителя используют полногеномное секвенирование.

Современные технологии генетического анализа применяют для решения следующих основных задач: мониторинг за циркуляцией возбудителей инфекций на определенной территории, в т.ч. определение пространственных и временных особенностей распространения генетических вариантов по территории, оценка динамики эволюционных изменений в популяции; эпидемиологическая расшифровка вспышек (случаев) инфекционных болезней, в т.ч. выявление источника инфекции, региона происхождения штамма, путей заноса, оценка эпидемического потенциала штамма.

Научно-исследовательские организации Роспотребнадзора имеют опыт практического применения методов молекулярно-генетического типирования, в т.ч. при осуществлении коллекционной деятельности.

Для решения задач эпиднадзора за возбудителями инфекционных болезней с использованием методов генетического анализа наиболее эффективен следующий алгоритм работы:

1) накопление сведений о генетическом разнообразии и распространении в мире актуальных для региона возбудителей инфекций, а также патогенов, занос которых возможен на данную территорию;

2) молекулярно-генетический мониторинг за циркуляцией в определенном регионе штаммов возбудителей инфекций с целью получения информации о характерных для региона генетических вариантах (геномное профилирование), создание пополняемых баз данных;

3) применение методов генетического типирования для оперативного анализа при эпидемиологическом расследовании единичных и групповых случаев инфекционных заболеваний, определение происхождения штамма возбудителя инфекции, источника инфекции.

В работе рассмотрены вопросы применения методов молекулярно-генетического анализа штаммов патогенов для решения задач обеспечения биологической безопасности в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу 2018 г. в г. Сочи.

*Генетический мониторинг возбудителей инфекционных болезней на территории Сочи в период подготовки к чемпионату мира по футболу в 2015–2017 гг.* Основными эпидемиологическими рисками в регионе Сочи являются: наличие активных природных очагов инфекций (ПОИ) — геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) и др., большое число лиц, приезжающих на отдых и различные мероприятия, и как следствие, возможность заноса инфекции как из различных регионов РФ, так и из-за рубежа.

С учетом опыта крупных международных мероприятий, свидетельствующего о преобладающих рисках возникновения вспышек ОКИ и местных рисках, связанных с опасными ПОИ, для накопления информации о генетических особенностях региональных штаммов проводилось молекулярно-генетическое типирование штаммов и изолятов нуклеиновых кислот (НК) возбудителей инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии, выявленных в данном регионе в 2015–2017 гг. Для определения генетического спектра возбудителей ОКИ проводилось исследование образцов клинического материала (пробы фекалий) от больных, госпитализированных в инфекционные стационары Сочи в период в 2015–2017 гг. С целью генетического типирования возбудителей ПОИ исследовали пулы иксодовых клещей видов *Ixodes ricinus*, *Neamaphysalis inermis*, образцы легкого грызунов и мелких млекопитающих, собранные при проведении эпизоотологического обследования территории Сочи, а также сыворотки крови от лихорадящих больных, выявленных в г. Сочи в указанный период.

В результате определены характерные для региона г. Сочи геноварианты возбудителей ОКИ: рота-, норо-, астро и энтеровирусов, *Salmonella enteritidis*, а также ПОИ: хантавирусов, риккетсий группы КПЛ, боррелий.

РНК-изоляты ротавирусов относились к 7 генотипам: G9[P]8, G4[P]8, G9[P]6, G4[P]6, G2[P]4, G1[P]8, G3[P]8. Выявлены изоляты норовирусов, принадлежащие к 3 генотипам: GII.17, GII.4\_Sydney\_2012, GII.3, варианты энтеровирусов генотипов Коксаки А4 и Коксаки А19, изоляты астровирусов генотипов HAstV-4 и HAstV-1.

Все исследованные штаммы *S. enterica* обладали идентичным MLVA-профилем 3-10-5-4-1.

На территории г. Сочи установлена циркуляция *Rickettsia helvetica* и *R. conorii*, хантавирусов «Добрава/Белград» и «Адлер», *Borrelia garinii* (ST 251) и *B. lusitaniae*, выявлено 3 новых сиквенс-типа боррелий.

Таким образом, была впервые осуществлена комплексная молекулярно-генетическая характеристика изолятов НК возбудителей ОКИ и ПОИ, циркулирующих на отдельной территории (г. Сочи). На основании результатов генетической идентификации изолятов возбудителей ОКИ и ПОИ проведена оценка их эпидемиологической значимости и определены особенности региональных популяций возбудителей ОКИ и ПОИ.

Варианты норовирусов генотипов GII.4\_Sydney\_2012 и GII.17, выявленные в регионе Сочи в 2015-2017 гг., обладают наибольшим эпидемическим потенциалом и наиболее часто являются этиологическими факторами крупных вспышек норовирусной инфекции [4, 5, 10]. Соотношение генетических вариантов ротавирусов в популяции г. Сочи (2015-2016 гг.) отличается от других регионов РФ. В регионе Сочи преобладали генотипы G9[P]8 (43,8 %) и G4[P]8 (31,3 %). В РФ доминирует генотип ротавирусов G4[P]8 (36,5-50,5 %), доля генотипа G9[P8] составляет 4,4-10 % [9].

В районе Сочи продолжается циркуляция хантавирусов «Адлер» и «Добрава-Сочи», являющихся эндемичными для этой территории. Заболевание, вызванное вирусом генотипа «Добрава-Сочи», отличается тяжелым течением [8]. Идентифицированные изоляты НК возбудителей иксодового клещевого боррелиоза и риккетсиозов, циркулирующие в регионе Сочи, наиболее генетически близки к европейским штаммам. Так, штаммы *B. garinii* сиквенс-типа ST251 ранее были выявлены в Германии (1994 г., 2008 г.) и Латвии (2007 г.). Впервые описанные сиквенс-типы *B. garinii* и *B. lusitaniae* наиболее генетически близки сиквенс-типам 244, 262, 576, 153, 148, 218 и 630. Варианты *B. garinii* сиквенс-типа 244 ранее были выявлены в Великобритании (2008 г.), Германии (1992 г. и 2011 г.) и России (г. Екатеринбург, 2014 г.), штаммы сиквенс-типов 576 и 262 выделены в Германии в 1992 г. и 2009 г. Варианты *B. lusitaniae* сиквенс-типа 148, 153 и 630 описаны в Сербии в 2010 г. и 2013 г., сиквенс-типа 218 — в Латвии (2007 г.).

*R. helvetica*, обнаруженная в клещах, собранных на территории г. Сочи, ранее была выделена из клещей *I. ricinus* и *Dermacentor reticulatus* на территории стран Европы: Франции — 1997 г., Хорватии — 2007 г., Швеции — 2006 г. [2, 3, 6].

На территории Лазаревского района Сочи установлена циркуляция *R. helvetica*, в Хостинском районе выявлены боррелии вида *B. lusitaniae* и хантавирус «Адлер» подгруппы II, на территории Адлерского района обнаружены боррелии *B. garinii* и хантавирус «Добрава/Белград» генотипа «Сочи». Территориальная приуроченность генетических вариантов возбудителей ПОИ в регионе Сочи определена с применением программного обеспечения ArcGis 10.1 [1].

Молекулярно-генетический анализ штаммов-патогенов был успешно применен в ноябре 2017 г. в период проведения XIX Международного фестиваля молодежи и студентов для эпидемиологического анализа случая заболевания лихорадкой денге участника фестиваля, прибывшего из Индии. Секвенирована нуклеотидная последовательность участка гена *CpгM* (435 п.н.) изолята РНК вируса денге из крови больного. В результате филогенетического анализа установлена принадлежность исследуемого изолята к генотипу V в пределах серотипа 1. С использованием информации из международной он-лайн базы данных DengueGenographicViewer (DGV), содержащей сведения о мировом распределении геновариантов вируса денге, установлено,

что генотип V имеет космополитное распространение, преобладает в Индии, также в 2016 г. большая часть случаев заболевания лихорадкой денге в Индии была связана с данным генотипом [7]. Сравнение секвенированной нуклеотидной последовательности с последовательностями из базы данных The Virus Pathogen Database and Analysis Resource (ViPR) показало, что исследуемый изолят наиболее близок к изоляту Dengue virus 1 isolate D1/IND/PUNE/IRSHA-06, выделенному в Индии в 2016 г. Таким образом, в результате молекулярно-генетического анализа установлено, что исследуемый изолят РНК вируса денге занесен из Индии, что соответствует данным эпидемиологического анализа.

*Применение методов молекулярно-генетического типирования штаммов возбудителей инфекционных болезней человека для обеспечения биологической безопасности в период проведения чемпионата мира по футболу 2018 г. в г. Сочи.* В период проведения чемпионата мира по футболу в г. Сочи в 2018 г. была обеспечена готовность к проведению генотипирования возбудителей актуальных для региона природно-очаговых, острых кишечных, а также особо опасных инфекций, накоплены данные о геномных портретах региональных штаммов: возбудителей ОКИ бактериальной и вирусной этиологии (*Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, ОРВИ (вирусы гриппа); возбудителей, эндемичных для региона, и других природно-очаговых инфекций (ГЛПС, КГЛ, ЛЗН, лихорадка Денге, Зика, Чикунгунья, Желтая лихорадка); возбудителей, являющихся потенциальными агентами биотерроризма (*Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Brucella* spp.);

Осложнений эпидемиологической обстановки в г. Сочи в период проведения матчей чемпионата мира по футболу не наблюдалось. Зарегистрированы спорадические случаи заболевания ОКИ бактериальной и вирусной этиологии и гриппом.

Проведено молекулярно-генетическое типирование РНК-изолята норовируса, выявленного в клиническом материале с достаточной вирусной нагрузкой от больного из Республики Панама. Расшифрована нуклеотидная последовательность фрагмента белка нуклеокапсида размером 227 п.н. Сравнение секвенированной последовательности с данными GeneBank, NogoNET и последовательностями ранее секвенированных изолятов из г. Сочи позволило определить принадлежность выявленного изолята к генотипу GI.4\_Sydney\_2012, который с 1990 г. является доминирующим в мире и обладает наибольшим эпидемическим потенциалом [4]. Норовирусы этого генотипа широко распространены в регионах Российской Федерации, данный геновариант доминирует в г. Сочи (47 % от всех изолятов норовирусов).

Мероприятия, проведенные в период подготовки к проведению чемпионата мира по футболу FIFA-2018, направленные на получение сведений о генетических особенностях региональных штаммов возбудителей инфекций в г. Сочи, мировом распространении геновариантов патогенов, занос которых возможен на данную территорию, а также обеспечению готовности лабораторной базы к проведению генетического типирования возбудителей инфекций позволили успешно применить методы молекулярно-генетического анализа для эпидемиологического анализа случаев заболевания людей при проведении чемпионата мира по футболу и международного фестиваля молодежи и студентов в г. Сочи. Необходимо отметить, что эффективность применения методов молекулярно-генетического анализа зависит от наличия информации о генетических особенностях как региональных штаммов, так и сведений о мировом генетическом разнообразии и преобладающих геновариантах различных возбудителей на текущий момент в различных регионах мира. Продолжение начатых исследований по изучению генетического спектра возбудителей инфекционных болезней в регионах Российской Федерации позволит уточ-

нить характеристику фоновых генетических вариантов возбудителей ПОИ и ОКИ на отдельных территориях. Полученные данные будут использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев (вспышек) инфекционных болезней для определения источника и путей распространения инфекции. Актуальна разработка программных (компьютерных) платформ для автоматизации эпидемиологического анализа с использованием молекулярно-генетической информации о возбудителях. Создание и внедрение в практику он-лайн платформы, позволяющей осуществлять сравнительный молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей и геномных профилей штаммов-патогенов, накапливать и систематизировать и отображать на карте данные о циркуляции в мире генетических вариантов возбудителей актуальных инфекций, способных вызвать эпидемические осложнения при заносе на территорию страны, и геновариантов, характерных для отдельных регионов России, позволит повысить эффективность эпидемиологического анализа случаев инфекционных заболеваний.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Куличенко А.Н., Волынкина А.С., Лисицкая Я.В., Котенев Е.С., Кузнецова И.В., Подколзин А.Т., Зайцева Е.В., Паркина Н.В., Оробей В.Г. Генетическое профилирование актуальных для региона г.-к. Сочи возбудителей природно-очаговых и кишечных инфекций. Бактериология. 2016, 1(1):16-21.
2. Dobec M., Golubic D., Punda-Polic V. et al. Rickettsia helvetica in Dermacentor reticulatus Ticks. Emerging Infectious Diseases. 2009, 15(1):98-100. doi:10.3201/eid1501.080815.
3. Fournier P.E., Grunnenberger F., Jaulhac B. et al. Evidence of Rickettsia helvetica infection in humans, eastern France. Emerging Infectious Diseases. 2000, 6(4):389-392.
4. Gonin P. et al. Genetic Diversity and Molecular Epidemiology of Norwalk-like Viruses. The Journal of Infectious Diseases. 2000, 182:691–697. <<http://dx.doi.org/10.1086/315780>>.
5. Graaf M., Beek J., Vennema H. et al. Emergence of a novel GII.17 norovirus — End of the GII.4 era? Euro Surveill. 2015;20(26):pii=21178. Article DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.26.21178>.
6. Nilsson K., Elfving K., Pehlgren C. Rickettsia helvetica in Patient with Meningitis, Sweden, 2006. Emerging Infectious Diseases. 2010, 16(3): 490-492. doi:10.3201/eid1603.090184.
7. Pickett B.E., Sadat E.L., Zhang Y. et al. VIPR: an open bioinformatics database and analysis resource for virology research. Nucleic Acids Res. 2012, 40:D593-D598.
8. Tkachenko E.A., Witkowski P.T., Radosa L. et al. Adler Hantavirus, a New Genetic Variant of Tula Virus Identified in Major's Pine Voles (Microtus Majori) Sampled in Southern European Russia. Infection, Genetics and Evolution. Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases. 2015, 29:156-163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.11.018>.
9. Veselova O., Podkolzin A., Petukhov D. et al. Rotavirus Group A Surveillance and Genotype Distribution in Russian Federation in Seasons 2012-2013. International Journal of Clinical Medicine. 2014, 5:407-413. doi: 10.4236/ijcm.2014.57055.
10. Vinje Jan. et al. Development and Application of a Capsid VP1 (Region D) Based Reverse Transcription PCR Assay for Genotyping of Genogroup I and II Noroviruses. Journal of Virological Methods. 2004, 116:109-117.

*Поступила 20.02.19*

Контактная информация: Волынкина Анна Сергеевна,  
355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652)26-03-12