

Генетическое профилирование актуальных для региона г.-к. Сочи возбудителей природно-очаговых и кишечных инфекций

А.Н.Куличенко¹, А.С.Волынкина¹, Я.В.Лисицкая¹, Е.С.Котенев¹, И.В.Кузнецова¹,
А.Т.Подколзин², Е.В.Зайцева², Н.В.Паркина², В.Г.Оробей³

¹ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация;

²ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

³Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по г. Сочи, Сочи, Российская Федерация

С целью определения фоновых генотипов актуальных для территории г.-к. Сочи инфекционных болезней проведено исследование и генотипирование изолятов нуклеиновых кислот (НК) возбудителей острых кишечных инфекций – 295 проб и природно-очаговых инфекций (ПОИ) – 30 пулов иксодовых клещей и 290 проб от грызунов, выявленных в регионе в 2015 г. Используются методы MLST-анализа и прямого секвенирования. Установлено, что наибольший удельный вес в структуре заболеваемости ОКИ имели ротавирусы группы А генотипов G9[P]8 и G4[P]8 и норовирусы II генотипа, варианты: GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012 и GII.Pe –GII.4 Sydney_2012.

Выявлены и типированы изоляты НК возбудителей ПОИ: на территории Лазаревского района г.-к. Сочи – *Rickettsia helvetica*, в Хостинском районе – боррелии вида *Borrelia lusitaniae* и хантавирус «Адлер» подгруппы II, на территории Адлерского района – боррелии *B. garinii* и хантавирус «Добрава/Белград» генотипа «Сочи». Проведен анализ эпидемического потенциала идентифицированных генотипов.

Ключевые слова: генотипирование, острые кишечные инфекции, природно-очаговые инфекции

Для цитирования: 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. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-16-21

Genetic profiling of actual for the Sochi region casual agents of natural focal and gastrointestinal infections

A.N.Kulichenko¹, A.S.Volynkina¹, Ya.V.Lisitskaya¹, E.S.Kotenev¹, I.V.Kuznetzova¹,
A.T.Podkolzin², E.V.Zaytseva², N.V.Parkina², V.G.Orobey³

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

³Territorial Department of Rospotrebnadzor in Sochi, Sochi, Russian Federation

In order to determine the “background” genotypes of actual infectious diseases on the territory of Sochi have been performed the testing and genotyping of isolates nucleic acids (NA) of casual agents of acute intestinal infection (295 samples), the natural focal infections (30 pools of ticks), and 290 samples from rodents, collected in the region in 2015. It has been used The MLST-analysis and direct sequencing. It was found that the largest part in the structure of gastrointestinal infections (GI) morbidity contributed rotaviruses group A: genotypes G9 [P] 8 and G4 [P] 8 and noroviruses GII variants: GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012 and GII.Pe -GII.4 Sydney_2012.

Isolates of nucleic acids of natural focal infections casual agents have been detected and typed: on the territory of the Lazarevsky district of Sochi has been found *Rickettsia helvetica*, in Khosta district – *Borrelia lusitaniae* and hantavirus “Adler” sub-group II, on the territory of the Adler district – *B. garinii* and hantavirus “Dobrava / Belgrade” genotype “Sochi”. The analysis of epidemic potential of identified genotypes has been performed.

Key words: genotyping, acute intestinal infections, natural focal infection

For citation: Kulichenko A.N., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Kotenev E.S., Kuznetzova I.V., Podkolzin A.T., Zaytseva E.V., Parkina N.V., Orobey V.G. Genetic profiling of actual for the Sochi region casual agents of natural focal and gastrointestinal infections. Bacteriology. 2016; 1(1): 16–21. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-16-21

Для корреспонденции:

Куличенко Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора

Адрес: 355000, Ставрополь, ул. Советская, 13-15

Телефон: (8652) 26-0312

E-mail: kulichenko_an@list.ru

Статья поступила 01.06.2016 г., принята к печати 15.08.2016 г.

For correspondence:

Alexander N. Kulichenko, MD, Professor, Director of Stavropol Research Anti-Plague Institute

Address: 13-15, Sovjetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation

Phone: (8652) 26-03-12

E-mail: kulichenko_an@list.ru

The article was received 01.06.2016, accepted for publication 15.08.2016

Регион г.-к. Сочи обладает уникальными климатогеографическими и социально-демографическими особенностями и является самым популярным курортом России, крупным культурным центром, важным транспортным узлом. Наличие развитой туристско-рекреационной инфраструктуры, модернизированной в период подготовки к XXII Олимпийским зимним играм, делает г.-к. Сочи удобным местом проведения массовых культурных и спортивных мероприятий, в т.ч. с международным участием. Это существенно увеличивает угрозу возникновения эпидемических ситуаций в регионе и повышает требования к эффективности системы обеспечения эпидемиологической (биологической) безопасности.

Основными эпидемиологическими рисками в регионе г.-к. Сочи являются: наличие активных природных очагов инфекций (ПОИ) – геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) и др., возможность заноса инфекции как из различных регионов РФ, так и из-за рубежа, существующая угроза биотерроризма. Ведущую роль в структуре инфекционной заболеваемости г.-к. Сочи (после ОРВИ) играют острые кишечные инфекции (ОКИ): интенсивный показатель в 2015 г. – 1071, по Краснодарскому краю – 454, при этом доля случаев ОКИ с неустановленной этиологией составляет 81,5%.

Качественное проведение эпидемиологического мониторинга за возбудителями инфекционных болезней, прогнозирование возможных осложнений эпидемиологической обстановки, разработка комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий невозможны без эффективной системы идентификации штаммов-патогенов. При этом важное значение для определения происхождения возбудителя инфекционной болезни (случая, вспышки) имеет информация о фоновых генотипах региональных штаммов, циркулирующих на территории в данный период.

В последние годы широкое практическое применение для характеристики микроорганизмов получили методы молекулярно-генетического анализа, обладающие большей дифференцирующей способностью по сравнению с фенотипическими методами типирования. Для большинства возбудителей инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы к настоящему времени разработаны и применяются в практической работе технологии генетического типирования, включающие методы ПЦР-типирования (PCR-RFLP, MLVA и др.), пульс-электрофорез (PFGE), сиквенс-типирование (MLST, секвенирование фрагментов генов) и т.д. Однако выбор и применение методов генетического анализа зависят не только от наличия международных интернет-баз данных по конкретному методу генотипирования, но и сведений об особенностях генотипов штаммов, циркулирующих в исследуемом регионе.

Наибольшее значение для региона г.-к. Сочи в эпидемическом плане имеют природно-очаговые инфекции, часто вызывающие тяжелые формы болезни заболеваний, а также ОКИ, способные приводить к массовым вспышкам. Создание компьютерных баз данных генотипов региональных штаммов, совместимых с существующими интернет-базами данных, представляет собой основу системы молекулярного анализа биологической безопасности территории. Формирование таких систем, включающих данные о генетических профилях актуальных для региона штаммов-патогенов, методическую базу генотипирования и анализа данных, актуально, в первую

очередь, для регионов с высоким риском завоза и распространения инфекций, к которым относится г.-к. Сочи.

Цель работы: генотипирование штаммов возбудителей природно-очаговых и кишечных инфекций, выявленных в регионе г.-к. Сочи в 2015 г., оценка эпидемического потенциала региональных геновариантов.

Материалы и методы

Для определения генетического спектра возбудителей ОКИ проводилось исследование образцов клинического материала (пробы фекалий) от 295 больных, госпитализированных в инфекционные стационары г.-к. Сочи в период с мая по октябрь 2015 г. В этот период отмечалась спорадическая заболеваемость ОКИ. Основными критериями включения материала в исследование было наличие в эпидемиологическом анамнезе данных об инфицировании больных во время пребывания в регионе г.-к. Сочи и достаточная нагрузка целевых НК.

Индикацию нуклеиновых кислот (НК) возбудителей ОКИ в клиническом материале осуществляли методом ПЦР с использованием наборов реагентов «Ампли Сенс ОКИ-скрин-FL» и «Ампли Сенс Enterovirus-FL» (производство «Интерлабсервис», РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Пробы фекалий, положительные на наличие возбудителей ОКИ, отбирали для проведения генетической идентификации изолятов.

Генетическую идентификацию изолятов НК ротавирусов осуществляли методом P[G] типирования с использованием специфических TaqMan зондов [1, 2]. Субвидовую характеристику изолятов НК норовирусов GI и GII проводили методом прямого секвенирования фрагментов генов полимераза и нуклеокапсида вируса [3, 4].

С целью генетического типирования возбудителей ПОИ исследовали пулы иксодовых клещей видов *Ixodes ricinus* (24 пробы), *Haemaphysalis inermis* (6 проб) и образцы легкого грызунов и мелких млекопитающих (290 проб), собранные при проведении эпизоотологического обследования территории г.-к. Сочи.

В пробах суспензий иксодовых клещей методом ПЦР осуществляли детекцию НК возбудителей ИКБ, клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ), лихорадки Ку, туляремии, вируса Конго-Крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ), вируса клещевого энцефалита (КЭ) с использованием наборов реагентов: «АмплиСенс® *Borrelia burgdorferi sensulato-FL*», «АмплиСенс® Риккетсии группы КПЛ-FL», АмплиСенс® *Coxiella burnetii-FL* «АмплиСенс® ССНФV-FL», «АмплиСенс® TBE-FL» (производство «Интерлабсервис», РФ), «Ген *Francisella tularensis* – РФ» (производство ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», РФ). Образцы суспензий легкого грызунов и мелких млекопитающих исследовали методом ПЦР на наличие РНК хантавирусов, в соответствии с протоколом методики [5]. Пробы полевого материала, положительные на наличие ДНК/РНК возбудителей ПОИ, отбирали для проведения генетического типирования.

Для генотипирования хантавирусов использовали метод прямого секвенирования фрагмента L-сегмента генома вируса размером 347 п.н. с последующим филогенетическим анализом [5]. Анализ уровня генетического родства и построение филогенетических деревьев проводили в програм-

ме Mega 5.05. с использованием метода Neighbor joining, по алгоритму Kimura-2. В качестве референсных использовались данные, полученные из базы данных GenBank, нуклеотидные последовательности L-сегмента штаммов хантавирусов: ADLER-VIRUS_Mm/172-11, ADLER-VIRUS_Mm/296-08, ADLER-VIRUS_Mm/554-11, ADLER-VIRUS_Mm/302-08, ADLER-VIRUS_Mm/340-08, ADLER-VIRUS_Mm/98/08, ADLER-VIRUS_Mm/173-11, TULV_Ma/5590-09, TULV_Moravia-5302v, PUUV_CG1820/POR, PUUV_49/CG/2005_Samara, PUUV_94/CG/2005_Samara, ANDV_Chile-9717869, ANDV_CHI-7913, SNV_NM-H10, SNV_NM_R11, HTNV_HV004, HTNV_76-118/POR, AMUR_ApJLCB2011-99, AMUR_H8205, DOBV_Saaremaa_160v-Estonia, DOBV_GRW/Aa_German, DOBV_SK/Aa_Slovakia, DOBV_Ano-Poroia/Af19/1999_Greece, DOBV_Ano-Poroia/Af9/199_Greece, DOBV_Slo/Af-BER_German, SEO_NYC-D15, SEO_NYC-D9, DOBV_Ap/Sochi/79, DOBV_Ap/Sochi/43, DOBV_Ap/Sochi/hu, DOBV_Sochi/6882/hu, DOBV_Sochi/10636/Ap.

Генетическое типирование изолятов возбудителя иксодового клещевого боррелиоза осуществляли методом мультилокусного сиквенс-типирования (MLST). Анализировали нуклеотидные последовательности фрагментов 8 консервативных генов «домашнего хозяйства»: *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB*, *uvrA* [6]. Секвенированные фрагменты ДНК сравнивали с референсными последовательностями из базы данных *Borrelia* MLST Databases (<http://pubmlst.org/borrelia/>) с проведением филогенетического анализа.

Идентификацию изолятов *Rickettsia sp.* проводили методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей фрагментов 4 генов (*atpA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*) с последующим сравнением с референсными последовательностями генома из базы данных GenBank с использованием алгоритма BLAST [7].

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетический анализ изолятов НК возбудителей ОКИ

На наличие ДНК *Shigella spp.* и *EIEC*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, аденовирусов группы F, РНК астровирусов, ротавирусов группы А, норовирусов 2 генотипа, энтеровирусов методом ПЦР исследовали 295 проб суспензий фекалий больных ОКИ. Возбудители ОКИ были определены в 223 пробах, в т.ч. в 175 пробах выявлен один из перечисленных возбудителей (моноинфекция), в 48 пробах – несколько патогенов (микст-инфекция). Результаты лабораторных исследований представлены в таблице 1.

Пробы, положительные на наличие ДНК *Shigella spp./EIEC* и *Salmonella spp.* исследовали бактериологическим методом. В результате анализа выделены культуры *Salmonella enterica*, серовар london-1, *Salmonella enterica* серовар enteritidis-1.

В результате исследований определено, что наибольшее число случаев заболевания ОКИ в г.-к. Сочи вызвано ротавирусом группы А (выявлен в 66,1% исследованных проб) и норовирусом GII (16,3%). Для проведения молекулярно-генетического типирования отобраны 16 изолятов НК ротавирусов группы А и 8 – норовирусов 2 генотипа.

Установлено, что идентифицированные варианты ротавирусов группы А принадлежали к 5 генотипам: G9[P]8 – 7 изо-

Таблица 1. Частота выявления возбудителей ОКИ в клиническом материале от больных в г.-к. Сочи в 2015 г.

Возбудитель	Количество проб, положительных на наличие РНК/ДНК возбудителей ОКИ					
	Всего		Моноинфекция		Микст-инфекция	
	абс. кол-во	%	абс. кол-во	%	абс. кол-во	%
Ротавирус gr A	195	66,1	149	50,5	46	15,6
Норовирус GII	48	16,3	13	4,4	36	12,2
Астровирус	14	4,7	4	1,4	11	3,7
Аденовирус	6	2,0	2	0,7	4	1,4
Энтеровирус	1	0,3	0	0,0	1	0,3
<i>Salmonella spp.</i>	5	1,7	4	1,4	1	0,3
<i>Shigella spp.</i> + EIEC.	3	1,0	2	0,7	1	0,3
<i>Campylobacter spp.</i>	3	1,0	1	0,3	2	0,7
Патоген не выявлен	72	24,4				

лятов НК (43,8%), G4[P]8 – 5 (31,3%), G9[P]6 – 1 (6,3%), G4[P]6 – 2 (12,5%), G2[P]4 – 1 (6,3%). Таким образом, в 2015 г. в регионе г.-к. Сочи преобладали генотипы G9[P]8 и G4[P]8. Необходимо отметить, что в 2011–2015 гг. в РФ доминировали генотипы ротавирусов G4[P]8 (частота выявления в 2011–2015 гг. варьировала в пределах 36,5–50,5%) и G1[P]8 (12–26,7%), доля генотипов G2[P]4 составляла 7–8%, G3[P]8 – 1–4,4% (в эпидсезон 2012–2013 гг. достигала 23,7%), G9[P]8 – 4,4–10% [8].

Среди норовирусов II генотипа в регионе г.-к. Сочи определено 4 генетических варианта: GII.P17-GII.17 – 2 изолята НК (18,2%), GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012 – 3 (27,3%), GII.Pe-GII.4 Sydney_2012 – 3 (27,3%), GII.P21-GII.3 – 1 (9,1%). Генетические варианты норовирусов GII.P4 New_Orlean_2009-GII.4 Sydney_2012 и GII.Pe-GII.4 Sydney_2012, выявленные в г.-к. Сочи в 2015 г., являются доминирующими в мире с 1990 г. и обладают наибольшим эпидемическим потенциалом. Штаммы с генотипом GII.P17-GII.17 в течение последних 30 лет выявлялись в мире спорадически, а с зимы 2014–2015 гг. широко распространились в странах Азии с вытеснением ранее доминировавшего генотипа GII.4 Sydney_2012. Единичные вспышки, вызванные генотипом вируса GII.P17-GII.17 в 2014–2015 гг., зарегистрированы также в Австралии, Тайване, США, Франции, Гонконге, Дании, ЮАР, Российской Федерации [9].

Молекулярно-генетический анализ изолятов НК возбудителей ПОИ

В результате исследования методом ПЦР 30 пулов иксодовых клещей в 7 пробах обнаружена 16sРНК возбудителя ИКБ, в 10 – ДНК риккетсий группы КПЛ.

При ПЦР-анализе 290 проб суспензий легкого грызунов и мелких млекопитающих на наличие РНК хантавирусов выявлено 3 положительных пробы. Все образцы полевого материала, содержащие идентифицированные НК возбудителей ПОИ, исследовали с целью генотипирования.

Проведен молекулярно-генетический анализ изолятов НК хантавирусов, выявленных в трех пробах суспензий легкого грызунов: № 90 – *Apodemus ponticus* (с. Гумария, Адлерский район), №199, 202 – *Microtus majori* (г. Ачишхо, Хостинский район). Определена нуклеотидная последовательность фрагмента L-сегмента генома вируса размером 347 п.о. При филогенетическом анализе секвенированных последовательностей генома вируса установлено, что в исследуемых об-

разцах содержатся варианты, относящиеся к двум видам хантавирусов: «Добрава/Белград» и «Адлер». В образце №90 идентифицирован хантавирус «Добрава/Белград» генотипа «Сочи», идентифицированный изолят имеет 3% различий в нуклеотидной последовательности с ранее выявленными в регионе г.-к. Сочи штаммами данного генотипа.

В образцах №199 и 202 идентифицирован хантавирус «Адлер». На филогенетическом древе, построенном по фрагменту L-сегмента генома, в пределах кластера, включающего штаммы хантавируса «Адлер», выделяются 3 подгруппы (I, II и III), коррелирующие с местом выделения: штаммы подгруппы I были выявлены в окрестностях г. Туапсе в 2009 г. и Лазаревском районе г.к. Сочи (р. Макопсе – 2008 г., а. Наджиги – 2011 г.), штаммы подгруппы II изолированы в с. Марьино Лазаревского р-на г.-к. Сочи в 2009 г. и 2011 г., штаммы подгруппы III выделялись в Адлерском районе г.-к. Сочи (Красная поляна – 2008 г., с. Маклюково – 2011 г.) [10]. Исследуемые в данной работе изоляты РНК №199 и 202 кластеризовались со штаммами подгруппы II (референсный изолят ADLEV-VIRUS_Mm/173-11) (рис. 1). Отличия нуклеотидной последовательности от ранее охарактеризованных изолятов подгруппы II хантавируса «Адлер» составили 3–9%.

Выявленные генетические варианты хантавирусов характерны для территории г.к. Сочи, хантавирусы «Добрава/Белград» генотипа «Сочи» определяются на территории г.к. Сочи с 2001 г., хантавирус «Адлер» был впервые идентифицирован в 2008 г., циркуляция изолятов генетической подгруппы II вируса «Адлер» ранее установлена на территории Лазаревского р-на [10, 11]. Для хантавирусов характерна высокая степень генетической гетерогенности, нуклеотидные различия в пределах геновидов могут достигать 18% [10]. Установленные различия нуклеотидных последовательностей, исследуемых в данной работе изолятов РНК и ранее описанных штаммов, позволяют говорить о наличии на территории г.-к. Сочи микропопуляций хантавируса, в которых циркулируют генетически близкие варианты.

Проведено мультилокусное сиквенс-типирование изолятов возбудителя иксодового клещевого боррелиоза, выявленных в четырех пробах суспензий иксодовых клещей: №156 – *I. ricinus* (Агурские водопады, Хостинский р-н), №158 – *H. inermis* (Агурские водопады, Хостинский р-н), №177, 179 – *I. ricinus* (Адлерский р-н).

Определена нуклеотидная последовательность фрагментов 8 генов: *clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB*, *uvrA*. Данные сиквенса сравнивали с референсными последовательностями из базы данных *Borrelia* MLST Databases (<http://pubmlst.org/borrelia/>). Исследуемые изоляты принадлежали к двум видам



Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное по фрагменту L-сегмента генома хантавирусов (347 п.о).

боррелий: *B. garinii* (изоляты №177 и 179) и *B. lusitaniae* (изоляты №156 и 158). В результате MLST типирования выявлены новые аллельные варианты MLST локусов *clpA*, *rplB*, *uvrA* и 3 новых сиквенс-типа боррелий, не представленных в базе данных (табл. 2). Вариант *B. garinii* №177 относится к сиквенс-типу 251, характерному для штаммов *B. garinii*, выявленных в Германии (1994 г., 2008 г.) и Латвии (2007 г.). Сиквенс-типы *B. garinii* и *B. lusitaniae* в образцах №179, 156 и 158 описаны впервые. Изолят НК *B. garinii* №179 наиболее генетически близок сиквенс-типам 244, 262, 576. Варианты *B. garinii*, принадлежащие к сиквенс-типу 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.

Выявленный вариант *B. lusitaniae* №156 обладает наибольшим генетическим родством со штаммами, принадлежащими к сиквенс-типу 153, описанными в Сербии в 2013 г., *B. lusitaniae* №158 наиболее близок к штаммам, относящимся к сиквенс-типам: 148 (Сербия, 2013 г.), 218 (Латвия, 2007 г.) и 630 (Сербия, 2010 г. и 2013 г.)

Боррелии вида *B. garinii* патогенны для человека и широко распространены в РФ. Штаммы данного вида, выявленные в Сибири и на Урале, обладают большим генетическим родством с вариантами из Китая, изоляты, выявленные на территории европейской части России, генетически близки к штаммам из стран Европы, что свидетельствует о существовании локальных популяций *B. garinii*. Изоляты *B. lusitaniae* ранее

Таблица 2. MLST-профилирование исследованных изолятов НК боррелий комплекса *B. Burgdorferii* s.l.

Номер изолята НК	MLST-локусы							ST	Наиболее близкие ST	
	<i>clpA</i>	<i>clpX</i>	<i>nifS</i>	<i>pepX</i>	<i>pyrG</i>	<i>recG</i>	<i>rplB</i>			<i>uvrA</i>
156	Описан впервые (близок к аллели 101)	97	94	12	18	40	Описан впервые (близок к аллели 48)	27	Описан впервые	153
158	189	21	20	27	18	118	74	Описан впервые (близок к аллели 172)	Описан впервые	148, 218, 630
177	95	74	34	96	89	78	77	85	251	–
179	42	34	34	38	37	111	80	39	Описан впервые	244, 262, 576



Рис. 2. Места выделения изолятов возбудителей природно-очаговых инфекций, циркулировавших на территории г.-к. Сочи в 2015 г.

выявлялись только в странах Европы (Португалия, Сербия, Австрия, Латвия) и регионах европейской части РФ, патогенность для человека данных видов боррелий не доказана.

Популяция боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в регионе г.-к. Сочи является частью европейской популяции данного возбудителя, о чем свидетельствует генетическое родство выявленных в г.к. Сочи изолятов со штаммами из стран Европы, а также циркуляция в данном регионе *B. lusitaniae* – эндемичного вида боррелий для европейских стран.

С использованием MLST генотипированы изоляты НК *Rickettsia* sp., идентифицированные в 5 пробах суспензий клещей: №160, 167 – *I. ricinus* (а. Калез, Лазаревский р-н), №168 – *H. inermis* (а. Калез, Лазаревский р-н), №169 – *I. ricinus* (а. Наджиго, Лазаревский р-н), №178 – *I. ricinus* (Адлерский р-н). Определены нуклеотидные последовательности 4 генов (*atpA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*). Сравнение секвенированных последовательностей с данными из базы GenBank с использованием алгоритма BLAST показало их идентичность ДНК *R. helvetica*. Этот вид риккетсий был выделен ранее из клещей *I. ricinus* и *Dermacentor reticulatus*, на территории стран Европы: Франции – 1997 г., Хорватии – 2007 г., Швеции – 2006 г. [12–14]. Доказана роль *R. helvetica* в инфекционной патологии человека: ДНК возбудителя выявляли в органах и тканях больных с «неспецифическими» лихорадками, в т.ч. с перимиеокардитом, менингеальными симптомами [12].

Территориальная приуроченность генетических вариантов возбудителей ПОИ на территории г.-к. Сочи представлена на рис. 2. На территории Лазаревского района г.-к. 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».

Таким образом, в результате проведенной работы впервые осуществлена комплексная молекулярно-генетическая характеристика изолятов НК возбудителей ОКИ и ПОИ, циркулирующих в регионе г.-к. 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 г.-к. Сочи в 2015 г., обладают наибольшим эпидемическим потенциалом и наиболее часто являются этиологическими фактора-

ми крупных вспышек норовирусной инфекции. Соотношение генетических вариантов ротавирусов в популяции г. Сочи (2015 г.) отличается от других регионов РФ.

В районе г.-к. Сочи продолжается циркуляция хантавирусов «Адлер» и «Добрава-Сочи», являющихся эндемичными для этой территории. Заболевание, вызванное вирусом генотипа «Добрава-Сочи», отличается тяжелым течением. Идентифицированные изоляты НК возбудителей иксодового клещевого боррелиоза и риккетсиозов, циркулирующие в регионе г.-к. Сочи, наиболее генетически близки к европейским штаммам.

Продолжение начатых исследований позволит уточнить характеристику фоновых генетических вариантов возбудителей ПОИ и ОКИ на этой территории, оценить динамику и направленность вероятных изменений. Полученные данные будут использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев (вспышек) инфекционных болезней для определения источника и путей распространения инфекции.

Финансирование. Работа выполнена за счет базового финансирования ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Литература

- Podkolzin AT, Fenske EB, Abramycheva NYu, Shipulin GA, Sagalova OI, Mazepa VN, et al. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005-2007. *J Infect Dis.* 2009 Nov 1;200 Suppl 1:S228-33. doi: 10.1086/605054.
- Veselova O, Podkolzin A, Petukhov D, Kuleshov K, Shipulin G. Rotavirus Group A Surveillance and Genotype Distribution in Russian Federation in Seasons 2012-2013. *International Journal of Clinical Medicine.* 2014;5:407-13. doi: 10.4236/ijcm.2014.57055.
- Gonin P, Couillard M, d'Halewyn MA. Genetic diversity and molecular Epidemiology of Norwalk-like viruses. *J Infect Dis.* 2000 Sep;182(3):691-7. <http://dx.doi.org/10.1086/315780>
- Vinje J, Hamidjaja RA, Sobsey MD. Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods.* 2004 Mar 15;116(2):109-17.
- Klempa B, Fichet-Calvet E, Lecompte E, Auste B, Aniskin V, Meisel H, et al. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg Infect Dis.* 2006 May;12(5):838-40. doi:10.3201/eid1205.051487.
- Margos G, Gatewood AG, Aanensen DM, Hanincová K, Terekhova D, Vollmer SA, et al. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(25):8730-8735. doi:10.1073/pnas.0800323105.
- Torina A, Fernández de Mera IG, Alongi A, Mangold AJ, Blanda V, Scarlata F, et al. *Rickettsia conorii* Indian tick typhus strain and *R. slovaca* in humans, sicily. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(6):1008-10. doi:10.3201/eid1806.110966.
- Подколзин АТ, Петухов ДН, Веселова ОА, Коновалова ТА, Чернявская ОП, Морозова НС. и др. Позитивные и проблемные аспекты применения ротавирусных вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2013;1(68):80-9.
- Graaf M, Beek J, Vennema H, Podkolzin AT, Hewitt J, Bucardo F, et al. Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? *Euro Surveill.* 2015;20(26):pii: 21178. doi: http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.26.21178
- Tkachenko EA, Witkowski PT, Radosa L, Dzagurova TK, Okulova NM, Yunicheva YV, et al. Adler hantavirus, a new genetic variant of Tula virus identified in Major's pine voles (*Microtus majori*) sampled in southern European Russia. *Infect Genet Evol.* 2015 Jan;29:156-63. doi: 10.1016/j.meegid.2014.11.018.

11. Dzagurova TK, Witkowski PT, Tkachenko EA, Klempa B, Morozov VG, Auste B, et al. Isolation of sochi virus from a fatal case of hantavirus disease with fulminant clinical course. *Clin Infect Dis*. 2012 Jan 1;54(1):e1-4. doi: 10.1093/cid/cir746
12. Nilsson K, Elfving K, Pålsson C. *Rickettsia helvetica* in Patient with Meningitis, Sweden, 2006. *Emerging Infectious Diseases*. 2010;16(3):490-2. doi: 10.3201/eid1603.090184.
13. Fournier PE, Grunnenberger F, Jaulhac B, Gastinger G, Raoult D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, eastern France. *Emerging Infectious Diseases*. 2000;6(4):389-92.
14. Dobec M, Golubic D, Punda-Polic V, Kaepfeli F, Sievers M. *Rickettsia helvetica* in Dermacentorreticulatus Ticks. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15(1):98-100. doi: 10.3201/eid1501.080815.

References

1. Podkolzin AT, Fenske EB, Abramychcheva NYu, Shipulin GA, Sagalova OI, Mazepa VN, et al. Hospital-based surveillance of rotavirus and other viral agents of diarrhea in children and adults in Russia, 2005-2007. *J Infect Dis*. 2009 Nov 1; 200 Suppl 1:S228-33. doi: 10.1086/605054.
2. Veselova O, Podkolzin A, Petukhov D, Kuleshov K, Shipulin G. Rotavirus Group A Surveillance and Genotype Distribution in Russian Federation in Seasons 2012-2013. *International Journal of Clinical Medicine*. 2014;5:407-13. doi: 10.4236/ijcm.2014.57055.
3. Gonin P, Couillard M, d'Halewyn MA. Genetic diversity and molecular Epidemiology of Norwalk-like viruses. *J Infect Dis*. 2000 Sep;182(3):691-7. <<http://dx.doi.org/10.1086/315780>>
4. Vinje J, Hamidjaja RA, Sobsey MD. Development and application of a capsid VP1 (region D) based reverse transcription PCR assay for genotyping of genogroup I and II noroviruses. *J Virol Methods*. 2004 Mar 15;116(2):109-17.
5. Klempa B, Fichet-Calvet E, Lecompte E, Auste B, Aniskin V, Meisel H, et al. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg Infect Dis*. 2006 May;12(5):838-40. doi:10.3201/eid1205.051487.
6. Margos G, Gatewood AG, Aanensen DM, Hanincová K, Terekhova D, Vollmer SA, et al. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(25):8730-8735. doi:10.1073/pnas.0800323105.
7. Torina A, Fernández de Mera IG, Alongi A, Mangold AJ, Blanda V, Scarlata F, et al. *Rickettsia conorii* Indian tick typhus strain and *R. slovaca* in humans, sicily. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(6):1008-10. doi:10.3201/eid1806.110966.
8. Podkolzin AT, Petukhov DN, Veselova OA, Konovalova TA, Chernyavskaya OP, Morozova NS, et al. Positive and problem aspects of rotavirus vaccines application. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013;1(68):80-9. (In Russian).
9. Graaf M, Beek J, Vennema H, Podkolzin AT, Hewitt J, Bucardo F, et al. Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? *Euro Surveill*. 2015;20(26): pii:21178. doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.26.21178>
10. Tkachenko EA, Witkowski PT, Radosa L, Dzagurova TK, Okulova NM, Yunicheva YV, et al. Adler hantavirus, a new genetic variant of Tula virus identified in Major's pine voles (*Microtus majori*) sampled in southern European Russia. *Infect Genet Evol*. 2015 Jan;29:156-63. doi: 10.1016/j.meegid.2014.11.018.
11. Dzagurova TK, Witkowski PT, Tkachenko EA, Klempa B, Morozov VG, Auste B, et al. Isolation of sochi virus from a fatal case of hantavirus disease with fulminant clinical course. *Clin Infect Dis*. 2012 Jan 1;54(1):e1-4. doi: 10.1093/cid/cir746
12. Nilsson K, Elfving K, Pålsson C. *Rickettsia helvetica* in Patient with Meningitis, Sweden, 2006. *Emerging Infectious Diseases*. 2010;16(3):490-2. doi: 10.3201/eid1603.090184.
13. Fournier PE, Grunnenberger F, Jaulhac B, Gastinger G, Raoult D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, eastern France. *Emerging Infectious Diseases*. 2000;6(4):389-92.
14. Dobec M, Golubic D, Punda-Polic V, Kaepfeli F, Sievers M. *Rickettsia helvetica* in Dermacentorreticulatus Ticks. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15(1):98-100. doi: 10.3201/eid1501.080815.

Информация о соавторах:

Волынкина Анна Сергеевна, научный сотрудник лаборатории природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора
Адрес: 355000, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (8652) 26-0312

Лисицкая Яна Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора
Адрес: 355000, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (8652) 26-0312

Котенев Егор Сергеевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора
Адрес: 355000, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (8652) 26-0312

Кузнецова Ирина Владимировна, научный сотрудник лаборатории биохимии ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора
Адрес: 355000, Ставрополь, ул. Советская, 13-15
Телефон: (8652) 26-0312

Подколзин Александр Тихонович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций отделения молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
Телефон: (495) 672-1201

Зайцева Екатерина Викторовна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций отделения молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
Телефон: (495)672-1201

Паркина Наталья Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций отделения молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
Телефон: (495)672-1201

Оробей Владимир Григорьевич, начальник территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи
Адрес: 354000, Краснодарский край, город-курорт Сочи, ул. Роз, 27
Телефон: (8622) 64-7948

Information about co-authors:

Anna S. Volynkina, Researcher, Laboratory of Natural Focal Infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute
Address: 13-15, Sovjetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (8652) 26-0312

Yana V. Lisitskaya – PhD, Senior Researcher, Laboratory of Natural Focal Infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute
Address: 13-15, Sovjetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (8652) 26-0312

Egor S. Kotenev – PhD, Head of the Laboratory of Natural Focal Infections, Stavropol Research Anti-Plague Institute;
Address: 13-15, Sovjetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (8652) 26-03-12

Irina V. Kuznetsova – Researcher, Laboratory of Biochemistry, Stavropol Research Anti-Plague Institute
Address: 13-15, Sovjetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation
Phone: (8652) 26-03-12

Alexander T. Podkolzin – MD, Head of Laboratory of Molecular Diagnostic and Epidemiology of Intestinal Infections, Molecular Diagnostic and Epidemiology Department, Central Research Institute of Epidemiology
Address: 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation
Phone: (495)672-1201

Ekaterina V. Zaytseva – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostic and Epidemiology of Intestinal Infections, Molecular Diagnostic and Epidemiology Department, Central Research Institute of Epidemiology
Address: 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation
Phone: (495) 672-1201

Natalia V. Parkina – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostic and Epidemiology of Intestinal Infections, Molecular Diagnostic and Epidemiology Department, Central Research Institute of Epidemiology
Address: 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation
Phone: (495) 672-1201

Vladimir G. Orobey – Head of Territorial Department of Rospotrebnadzor for Krasnodar territory in Sochi
Address: 27, Roz St., Sochi, Krasnodar territory, 354000, Russian Federation
Phone: (8622) 64-7948