РЕШЕНИЕ

Проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы» (48.04), Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации (48.00) при ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт.

(г. Ростов-на-Дону, 5 июня 2014 г.)

В соответствии с планом работы Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации на базе Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института проведено заседание проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы» (48.04) 5 июня 2014 г.

В работе приняли участие 23 члена проблемной комиссии, специалисты ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора; ФКУЗ «Противочумный центр», противочумных станций Роспотребнадзора, ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии», ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Территориальное управление Роспотребнадзора по Ростовской области, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области.

На заседании Проблемной комиссии были заслушаны научные доклады о мониторинге холеры на территории Российской Федерации, о санитарной охране территории от заноса и распространения холеры, об эпидемиологическом надзоре за холерой на территории РФ и перспективах его совершенствования, об изучении холерных вибрионов не О1 / не О139 серогрупп – возбудителей острых кишечных инфекций в Ростовской области, о INDEL и VNTR типировании штаммов *V. cholerae*, выделенных из объектов окружающей среды на территории РФ; о месте MAIDI-TOF масс спектрометрии в схеме лабораторной диагностики холеры, о новых препаратах на основе моноклональных антител для лабораторной диагностики холеры, о влиянии антибактериальных препаратов на биопленки холерных вибрионов.

Среди перспективных направлений дальнейших исследований необходимо отметить следующие:

– совершенствование эпидемиологического надзора при выполнении научно-исследовательской работы «Совершенствование системы эпидемиологического надзора за холерой в Российской Федерации» (2014-2017 гг.): разработка алгоритмов районирования территорий Российской Федерации по типам эпидемических проявлений холеры с выработкой новых критериев дифференциации территорий, учитывающих результаты мониторинговых исследований и рекомендации учреждений Роспотребнадзора;
– создание географической информационной системы «Холера Эль-Тор.

Распространение по странам мира» (с ретроспекцией по 1915 г.) в рамках мониторинга холеры на глобальном и региональном уровнях;

- проведение углубленных молекулярно-генетических исследований и генетической паспортизации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории Российской Федерации с использованием высокоразрешаюших методов генетического типирования – анализа вариабельных тандемных повторов (VNTR), внедрение результатов виртуального INDEL – типирования вибрионов на коллекции штаммов выделенных на территории РФ, анализа дифференцирующих геномных регионов (DFR), мультилокусного сиквенс-типирования (MLST), PFGE-типирования;
- полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей генов, аминокислотных последовательностей и их продуктов;
- исследование механизмов экспрессии факторов патогенности и персистенции возбудителя холеры, клонирование их генетических детерминат, создание эффективных продуцентов целевых рекомбинантных продуктов для исследования их биологической активности и использования в разработке нового поколения средств специфической профилактики и иммунодиагностики возбудителя холеры;
- протеомные исследования штаммов возбудителя холеры с использованием технологий двумерного электрофореза, высокоэффективной жидкостной хроматографии и других современных аналитических методов;
- дальнейшее внедрение ускоренных автоматизированных методов идентификации и хемотипирования штаммов холерного вибриона на основе технологий сравнительного анализа масс-спектральных характеристик микробных клеток (MALDI-TOF), разработка нормативно-методической базы, регламентирующей применение данной технологии в диагностических исследованиях ПБА I-II групп патогенности и обеспечивающей необходимый уровень биологической безопасности;
- совершенствование диагностики холеры и других патогенных для человека вибрионов, включая разработку тест систем для детекции факторов патогенности; разработка алгоритма молекулярного типирования *V. cholerae* при проведении оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа и изучении филогенетической истории возбудителя;
- внедрение разработок, полученных в результате мониторинга судовых балластных вод, в морских портах РФ;
- исследование изменчивости и эволюции геномов возбудителя холеры и других патогенных для человека вибрионов на основе данных полногеномного секвенирования, мультилокусного анализа генов эпидемической значимости, устойчивости к антимикробным соединениям, адаптации к факторам внешней среды;

– изучение экологических условий, способствующих сохранению возбудителя в объектах окружающей среды. Выяснение причин и условий обнаружения (контаминации и циркуляции) холерного вибриона в поверхностных водоемах;
– создание на сайте Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института рубрики для онлайн консультаций с целью оказания практической и консультативно-методической помощи по вопросам, связанным с лабораторной диагностикой холеры, для специалистов Роспотребнадзора и Министерства Здравоохранения.

В рамках ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)» разработаны следующие методические и нормативные документы:

- Практическое руководство «Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней»/ под ред. академика РАМН Г.Г. Онищенко, академика РАМН В.В. Кутырева. - М.: ЗАО «Шико», 2013. - 560 с.- ISBN 978-5-900758-68-8 (Иркутский НИПЧИ);
- Руководство к практическим занятиям по лабораторной диагностике холеры. - М.: Горячая линия – Телеком, 2012. – 90 с.: ил.- ISBN 978-5-9912-0276-3 (Иркутский НИПЧИ);
- Проект МУ «Использование методов полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (рибопринтинг, электрофорез в пульсирующем поле) для идентификации возбудителей I-IIгрупп патогенности» (раздел «PFGE-типирование *Y. pestis* и *V. cholerae*») (Иркутский НИПЧИ).

Унифицированный электронный каталог коллекции геномных портретов 10 штаммов *V. cholerae* O1 направлен в ФБУН «ГНЦ ПМБ» (Ростовский-на-Дону противочумный институт).

Материалы по разработке и регистрации иммуноферментных тест-систем на основе видоспецифических моноклональных пероксидазных конъюгатов для идентификации холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп и детекции специфических противохолерных антител направлены в ФБУН «ГНЦ ПМБ» (в рамках Госконтракта) (Ростовский-на-Дону противочумный институт).

Получен патент: «Способ определения липолитической активности в субклеточных фракциях бактерий» (Иркутский НИПЧИ).

Подана заявка на изобретения: «Способ дифференциации токсигенных генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор с разным эпидемическим потенциалом методом мультиплексной полимеразной цепной реакции и тест-система для его осуществления» (РосНИПЧИ «Микроб»).

Получено 3 свидетельства на регистрацию баз данных: «Белковые профили масс-спектров представителей вида *V. cholerae* для программы MALDI Biotyper», «Холерный вибрион ctxB-SNP», «Парагемолитические вибрионы России и сопредельных государств: ПЦР генотипы» (Ростовский-на-Дону противочумный институт).

Депонированы в ГКПБ «Микроб» и ФБУН «ГНЦ ПМБ» 19 штаммов *V. cholerae* (13 штаммов – Ростовский-на-Дону противочумный институт; 4 штамма – РосНИПЧИ «Микроб»; 2 штамма – Иркутский НИПЧИ).

Депонированы в GenBank: «Полногеномные последовательности трех штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы»; «Нуклеотидные последовательности острова пандемичности VSP-II5» (РосНИПЧИ «Микроб»); нуклеотидные последовательности генома штамма *V. cholerae* El Tor И-1263 – полученные в результате секвенирования, предназначенные для проведения сравнительного филогенетического анализа (Иркутский НИПЧИ), нуклеотидные последовательности штамма *L.acidofillus* VKM B 2020-D – антагониста *V. cholerae* (Ростовский-на-Дону противочумный институт).

Продолжается формирование созданных специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт проблемно-ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Мир», «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории», «Холера Эль-Тор. СНГ. Россия», «Холерные вибрионы. Россия» и «Холера и патогенные для человека вибрионы» для информационного обеспечения научных исследований, оценки состояния, тенденций в динамике заболеваемости холерой и прогноза.

Издан аннотированный библиографический указатель «Холера и патогенные для человека вибрионы» за 2013 г. (Ростовский-на-Дону противочумный институт).

В Коллекции бактериофагов патогенных бактерий ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора депонирован штамм фага *Phagum parahaemolyticus (*19166).

На базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора функционирует центр патогенных вибрионов, коллекция которых включает более 9000 штаммов. Проводится работа в рамках задач референс-центра по мониторингу холеры на территории России.

Пятый сезон ведется мониторинг судовых балластных вод в портах РО (Таганрог, Азов, Ростов). Из 231 проб в 58 обнаружены холерные вибрионы не O1/O139. Отработаны методики отбора и составлен алгоритм профилактических (противоэпидемических мероприятий) в случае выявления токсичных штаммов.

Предложена методика INDEL-типирования вибрионов, проведен анализ in silico. Составлены и зарегистрированы базы данных потенциальных генетических мишеней молекулярного типирования.

Осуществлялась подготовка кадров по лабораторной диагностике и эпиднадзору за холерой на курсах профессиональной переподготовки для врачей, биологов и лаборантов учреждений Роспотребнадзора и ЛПО. В 2013-2014 гг. проведены курсы повышения квалификации по лабораторной диагностике холеры для врачей-бактериологов Ростовской области и семинар по молекулярно-биологическим методам исследования для специалистов СПЭБ.

Научные исследования противочумных институтов и других учреждений Роспотребнадзора по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы» в 2014 г. представлены 30 темами, из которых выполнение 7 тем начато с 2014г. (6 – ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт», 1 - ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»).

Завершается в 2014 г. выполнение 7 тем. Все темы выполнены в ФКУЗ

Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

В 2015 г. будет продолжена работа по выполнению 23 переходящих тем (21 тема - ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» (1 из них – совместно с Волгоградским научно-исследовательским противочумным институтом»), и по 1 теме ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» и ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»). На 2015 г. планируются 3 новых темы (2 – ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» и 1 – ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт»).

Всего в 2015 г. по проблеме «Холера…» будет выполняться 26 тем. Вся тематика пересмотрена с учетом повышения эффективности, практической значимости, оптимизации сроков выполнения НИР и комплексности исследований.

Заслушана информация о ходе выполнения плана внедрения результатов научных исследований в практику здравоохранения в 2014 году. Институты отчитались по 30 предложениям из которых: в 4 – авторы все противочумные институты, в 12 – Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока, в 8 – Ростовский-на-Дону противочумный институт, в 4 – Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», в 1 – Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт, и в 1 – Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт.

Рассмотрен и одобрен план внедрения результатов научных исследований в практику здравоохранения на 2015 г. – всего 17 предложений (6 – Ростовский-на-Дону противочумный институт, 5 – Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока, 5 – Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» и 1 – Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт).

Материалы проблемной комиссии опубликованы в юбилейном сборнике «Холера и патогенные для человека вибрионы» (выпуск № 27).

В 2014 году продолжается подготовка кадров по вопросам организации эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики холеры на курсах профессиональной переподготовки и повышения квалификации.

<u>На основании изложенного, Проблемная комиссия постановляет:</u>

1 Одобрить деятельность Ростовского-на-Дону противочумного института как ведущего по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы» и референс-центра по мониторингу холеры на территории Российской Федерации;

2 Одобрить итоги завершаемых в 2014 году тем, ход выполнения переходящих на 2015 год НИР и отчет о выполнении плана внедрения результатов НИР по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы»;

3 Одобрить Всероссийский план НИР по проблеме «Холера и патогенные для человека вибрионы» на 2015 г., включающий 26 научных тем. Включить в план внедрения результатов НИР в практику здравоохранения 17 предложений;

<u>Противочумным учреждениям Роспотребнадзора:</u>

- руководствоваться в работе положениями и указаниями, изложенными в

РЕЗОЛЮЦИИ Совещания специалистов Роспотребнадзора по вопросам совершенствования эпидемиологического надзора за холерой, проведенного 4-5 июня 2014 года в г. Ростове-на-Дону на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора;

- считать приоритетным направление по совершенствованию и отработке схем взаимодействия учреждений Роспотребнадзора Российской Федерации с заинтересованными службами и ведомствами по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения;
- интенсифицировать проведение фундаментальных и прикладных научных исследований в области борьбы с холерой; оптимизировать нормативно-методическую базу за счет внедрения современных высокоинформативных диагностических технологий с учетом научных достижений и международных стандартов;
- продолжить работу по внедрению в работу лабораторий MALDI-TOF масс-спектрометрии, секвенирования 16S рДНК.
- осуществлять взаимодействие со странами СНГ, ШОС и другими международными организациями в указанной области;
- совершенствовать стратегию и тактику по предупреждению и ответным мерам на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера;
- оптимизировать системы быстрого реагирования на чрезвычайные ситуации, в том числе с использованием мобильных формирований – специализированных противоэпидемических бригад.

<u>ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора</u>:

- Подготовить к утверждению на федеральном уровне:
- МР «Отбор и микробиологическое исследование балластных вод морских (речных) судов, выполняющие рейсы в морские порты неблагополучных по холере стран»;
- МР «Расчет стандартных значений экономического ущерба, наносимого одним случаем холеры (больной холерой, вибриононосителем), с учетом комплекса противохолерных мероприятий»;
- МР «Расчет мощности и потребности в кадрах лабораторий при формировании лабораторной базы в очаге холеры»;
- МР «Определение эпидемического потенциала административной территории (на уровне муниципальных образований) при холере».
- Переработать «Инструкцию по контролю специфической стерильности экспериментальных препаратов, приготовленных из культур чумного, туляремийного и холерного микробов» (Документ, утвержденный ГУКИ МЗ СССР. Москва. 1982);
- Зарегистрировать базу данных «Холерные вибрионы не О1/не О139 серогрупп Ростовской области»;
- Создать аннотированный библиографический указатель «Холера и патогенные для человека вибрионы» (за 2014 год);

<u>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора:</u>

- Оформить патенты на:

  «Способ одновременной идентификации токсигенных штаммов геновариантов возбудителя холеры Эль Тор и их дифференциации по эпидемическому потенциалу методом мультиплексной полимеразной цепной реакции и тест-система для его осуществления»;

  «Способ дифференциации токсигенных генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор с разным эпидемическим потенциалом методом мультиплексной полимеразной цепной реакции и тест-система для его осуществления»;

  «Способ идентификации токсигенных штаммов геновариантов возбудителя холеры Эль Тор и их дифференциации по эпидемическому потенциалу»;

  «Способ получения энтеросорбента на основе хитозана для избирательной сорбции холерного энтеротоксина»;
- Создать тест-систему для определения антител к антигенам холерного вибриона и холерного токсину методом ИФА.

  ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора:
- Депонировать в GenBank 40 нуклеотидных последовательностей «housekeeping» генов (*dnaE, pgm,cat,chi)* штаммов холерного вибриона;
- Депонировать в GenBank полной нуклеотидной последовательности генома штамма *V. cholerae* El Tor И-1471;
- Зарегистрировать базу данных «*V. cholerae* Сибирь и Дальний Восток – генотип»;

  ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательским противочумный институт» Роспотребнадзора:
- Депонирование в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ГКПМКК «Оболенск» коллекции штаммов *Vibrio cholerae* O1.

  ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора:
- разработка и регистрирация иммунохроматографических тест-систем для выявления O1 и O139 антигена холерных вибрионов в клиническом материале.