

**Филогенетичен анализ на 7 целогеномно
секвенирани изолата *Brucella melitensis*,
циркулирали през 2015 г. по време на
автохтонната епидемия на бруцелоза в
България**

**Владимир Толчков, Йордан Ходжев, Борислава Цафарова, Румяна Ненова, Искра
Томова, Лилия Горянова, Иван Иванов, Иван Стойков, Деян Дончев, Стефан
Панайотов**

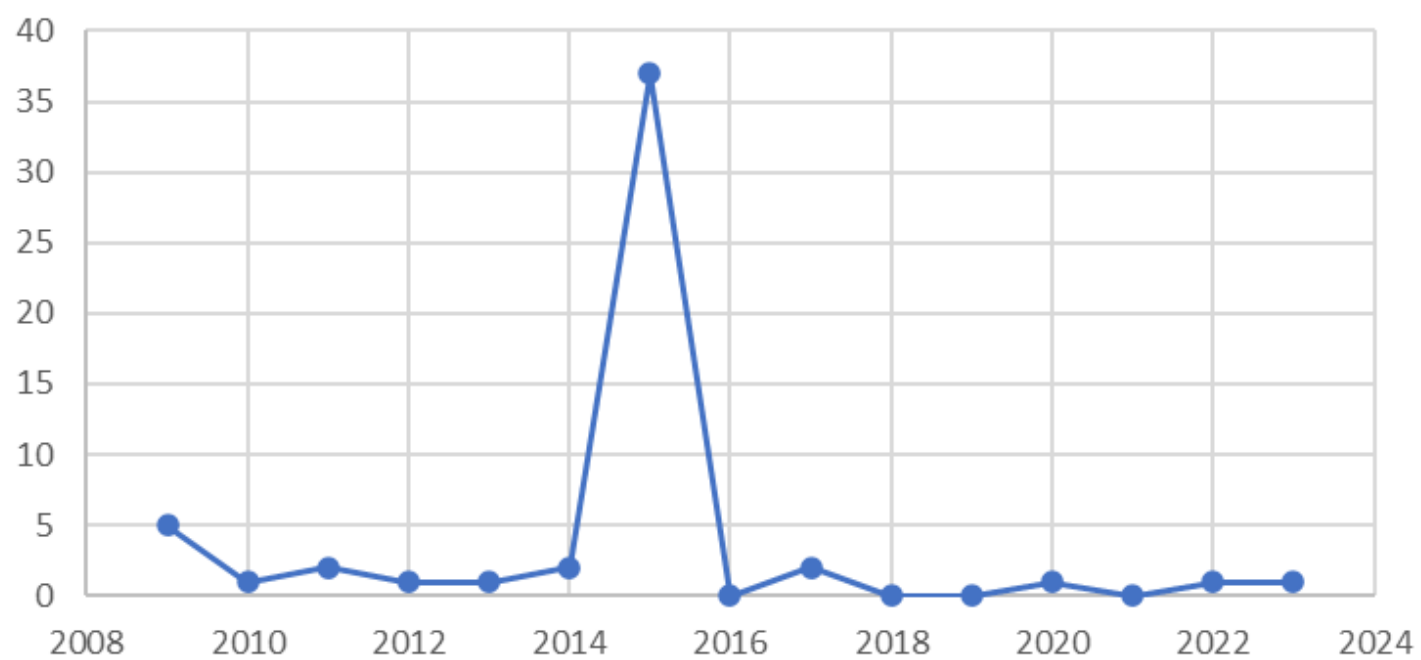
Отдел Микробиология, Национален център по заразни и паразитни болести

- Бруцелозата е зооноза с около половин милион случая годишно в световен мащаб, която се предава на хора от селскостопански животни, нейни причинители са бактериите от род *Brucella*. В България се наблюдават единични случаи годишно с изключение на някои години, през които са наблюдавани взривове. За последен път до момента са наблюдавани два взрива през 2015 година в град Рила, област Кюстендил, и село Ракита, община Червен Бряг, област Плевен.

Регистрирани случаи бруцелоза при хора в България през последните години

- 2023 – 1 2014 – 2
- 2022 – 1 2013 – 1
- 2021 – 0 2012 – 1
- 2020 – 1 2011 – 2
- 2019 – 0 2010 – 1
- 2018 – 0 2009 – 5
- 2017 – 2
- 2016 – 0
- 2015 – 37

Случаи на бруцелоза в България през последните години



- През 2015 година в разгара на взрива бяха определени серологично в Националната референтна лаборатория по особено опасни инфекции положителни проби за *Brucella melitensis* от пациенти от взрива от Рила и Ракита. Благодарение на новата апаратура, придобита от НЦЗПБ (секвенатор от ново поколение и MALDI-TOF) беше възможно епидемиологично проучване, представено в настоящата презентация. Принадлежността изолатите от двете населени места към *B. melitensis* беше потвърдена масспектрометрично.

- През последните години секвенирането на цели геноми (Whole Genome Sequencing WGS) от следващо поколение се превърна години в златен стандарт за генетичното охарактеризиране на бактериалните щамове. Изследването на щамовете, изолирани при двата взрива през 2015 година е осъществено чрез секвенатор Illumina MiSeq след изолиране на геномна ДНК от тях. Суровите данни от секвенатора са представени от FASTQ текстови файлове, съдържаща фрагменти секвенирана ДНК с големина 150-200 нуклеотидни двойки.

- Получените сурови данни бяха сглобени в бактериален геном *de novo* – без използване на референтен геном чрез асемблера *Unicycler*. Таксономичната идентификация на щамовете беше потвърдена и използването на платформата *PATRIC*.
Допълнително беше генериран списък на 100-те най-сходни генома налични в *Genbank*. Бяха подбрани 10 от най-близките щамове изолирани от Турция и 4 по-далечни изолата от Сирия.

- Към секвенираните от нас щамове бяха добавени Brucella 7 и Brucella 8, изолирани съответно 2007 и 2008 година, за сравнение с тези от взривовете от 2015 година. Техният анализ е направен чрез платформата за филогенетичен анализ Type Genome Server (TYGS). Анализът показва три ясно изразени клъстъра: 1) сирийските щамове са групирани заедно и са генетично най-отдалечени. 2) всички български щамове от регионите Рила и Ракита образуват група заедно с изолата Brucella 7. 3) турските щамове образуват отделна група заедно с щама Brucella 8. В заключение, анализът показва че двойно-фокалния взрив произлиза от един щам. Резултатите изключват с висока степен на достоверност Турция като произход на инфекцията.

