

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ МЕНИНОКОКОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Тагаченкова Т.А., Миронов К.О., Анпилова Н. Г., Королева И.С.,
Шипулин Г.А.

*ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;
Омская государственная медицинская академия, Омск, Россия*

Введение. В целях повышения качества и эффективности эпидемиологического надзора за менингококковой инфекцией и гнойными бактериальными менингитами приказом Роспотребнадзора от 17.03.2008 №88 «О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней» на базе ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора создан Референс-центр по мониторингу за бактериальными менингитами. На основании письма №01/9620-0-32 от 29.06.2010 «О взаимодействии территориальных органов и учреждений Роспотребнадзора с Референс-центром по мониторингу за бактериальными менингитами» организовано направление выделенных культур менингококков, пневмококков, гемофильных палочек тип b, секционного материала от больных с летальным исходом при подозрении на заболевание генерализованной формой менингококковой инфекции (ГФМИ), а также клинического материала от больных ГФМИ при групповых случаях заболеваний в лабораторию Референс-центра по мониторингу за бактериальными менингитами для изучения биологических и генетических свойств возбудителей.

Цель и задачи. Охарактеризовать штаммы менингококков, циркулировавших на территории Омской области в 2008-2009 гг., с использованием молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы. Из медицинских учреждений Омской области получен клинический материал от 40 больных с подозрением на ГФМИ. Клинический материал был исследован методом ПЦР с использованием тест-систем производства ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» (Москва). Этиологическая диагностика гнойных бактериальных менингитов проведена с использованием тест-системы «АмплиСенс Neisseria spp., Haemophilus spp, Streptococcus spp.-EPh». Определение серогрупповой принадлежности исследуемых образцов проведено с помощью тест-системы «АмплиСенс Neisseria meningitidis A, B, C-EPh». Типирование проводили согласно международным требованиям для проведения мультилокусного секвенирования-типирования (МЛСТ) и антигенной характеристики бактерий

вида *Neisseria meningitidis*. Присвоение номеров аллелей, определение сиквенс-типов и обозначение клональных комплексов осуществляли согласно общепринятой международной номенклатуре через Интернет-ресурс <http://pubmlst.org/neisseria/>. На момент исследования база данных включала результаты типирования 17690 изолятов бактерий рода *Neisseria*, которым соответствовало 6993 варианта сиквенс-типов.

Основные результаты. В клиническом материале, полученном от 11 больных, ДНК *N.meningitidis* не обнаружена. В материале от 29 больных подтверждено наличие ДНК *N.meningitidis* и у 28 больных определена серогруппа менингококка: серогруппа А – 1 образец, серогруппа В – 16 образцов и серогруппа С – 10 образцов. В 1 образце серогруппу менингококка определить не удалось.

Для 11 образцов проведена антигенная характеристика, основанная на типировании варибельных фрагментов белков наружной мембраны PorA и FetA. Эпидемиологическая характеристика и антигенный профиль этих штаммов представлены в таблице.

№	Возраст	Серогруппа/ год	Результаты			
			VR1 (PorA)	VR2 (PorA)	VR (FetA)	Антигенный профиль
1	22 года	A/09	5-1	10-27	F4-35	A:P1.5-1,10-27:F4-35
2	8 мес.	B/08	5-1	10-4	F3-3	B:P1.5-1,10-4:F3-3
3	11 мес.	B/08	5-3	2-16	F3-9	B:P1.5-3,2-16:F3-9
4	21 год	B/09	5-1	10-4	F5-2	B:P1.5-1,10-4:F5-2
5	67 лет	B/08	21	16	F5-41	B:P1.21,16:F5-41
6	11мес.	B/09	5-3	10-2	F5-2	B:P1.5-3,10-2:F5-2
7	77 лет	B/09	5-1	2-2	F3-6	B:P1.5-1,2-2:F3-6
8	1г.8мес.	B/09	21	16	F1-5	B:P1.21,16:F1-5
9	35 лет	C/09	17	16-4	F5-59	C:P1.17,16-4:F5-59
10	8 мес.	C/08	5-2	10	F4-1	C:P1.5-2,10:F4-1
11	11 мес.	C/09	17	16-4	F4-1	C:P1.17,16-4:F4-1

Антигенный профиль менингококка серогруппы А не типичен для штаммов этой серогруппы: аллель 5-1 фрагмента VR1 (PorA) был выявлен ранее у 781 штамма, представленного в базе данных, из которых только 7 штаммов относятся к серогруппе А, аллель 10-27 был выявлен у ранее только у 3 штаммов серогруппы В и аллель F₄₋₃₅ впервые найден при проведении данного исследования.

При анализе антигенных профилей штаммов серогрупп В и С не выявлено преобладающего генетического субтипа или аллеля VR (FetA).

Распределение аллелей штаммов серогруппы В 5-1 и 21 фрагмента VR1 (PorA); аллелей 2-16, 2-2, 9 и 16 фрагмента VR2 (PorA); аллелей F3-9, F3-6, F1-5 и F5-2 фрагмента VR (FetA) типично для штаммов этой серогруппы, циркулирующих на территории Москвы. Аллелей 5-3 фрагмента VR1 (PorA), 10-2 и 10-4 фрагмента VR2 (PorA), F3-3, F5-2 и F5-41 фрагмента VR (FetA) у штаммов, циркулирующих на территории Москвы, в предыдущих исследованиях выявлено не было. У штаммов серогруппы С выявлены аллели 17 VR1 (PorA) и 16-4 VR2 (PorA), типичные для штаммов этой серогруппы; аллели 5-2 VR1 (PorA), 10 VR2 (PorA), F4-1 и F5-59 VR (FetA) на территории Москвы выявлены не были. Отсутствие преобладающего аллеля в исследуемой популяции и высокий уровень антигенного разнообразия характерен для штаммов серогрупп В и С.

Часть штаммов (1 штамм серогруппы А и 3 – серогруппы С) была исследована методом МЛСТ. Результаты типирования опубликованы в общедоступной базе данных <http://pubmlst.org/neisseria/>, им присвоены идентификационные номера id15021, id15028, id15037 и id13167. Из четырех штаммов только один имел сиквенс-тип, выявленный ранее – ST-1258; полное обозначение штамма – С: P1.5-2,10: F4-1: ST-1258 (-). ST-1258 встречался только один раз на территории Греции в 1999 году. Остальные три штамма ранее в Интернет базе данных представлены не были. Все штаммы менингококка серогруппы С были отнесены к клональному комплексу «ST-41/44 complex/Lineage 3». В клональный комплекс «ST-41/44 complex/Lineage 3» входят в основном менингококки серогруппы В (71,8%), неагглютинирующиеся менингококки (9,4%), менингококки серогруппы С (4,7%), доля менингококков других остальных серогрупп в данном клональном комплексе составляет менее процента каждый. При этом, штаммы клонального комплекса «ST-41/44 complex/Lineage 3» выделялись как от больных ГФМИ (67,1%), так и у носителей (32,9%).

Заключение. С использованием метода МЛСТ проведена генетическая и антигенная характеристика возбудителей ГФМИ, циркулирующих на территории Омской области. Выделенные штаммы менингококков принадлежат к серогруппам А, В и С, серогруппу одного штамма определить не удалось. В антигенном профиле типированных штаммов серогрупп В и С не удалось выявить преобладающего генетического субтипа или аллеля VR (FetA), что характерно для штаммов этих серогрупп, циркулирующих на других территориях (Москва, некоторые европейские страны). Штаммы серогруппы С, типированные методом МЛСТ, входят в клональный комплекс «ST-41/44 complex/Lineage 3», типичный для штаммов этой серогруппы: менингококки серогруппы С, входящие в этот клональный комплекс

были выделены ранее на других территориях. Выявленный штамм серогруппы А с сиквенс-типом ST-7639 не входит ни в один из известных клональных комплексов. Однократное выявление штамма с этим сиквенс-типом, по-видимому, не позволяет говорить о его повышенных вирулентных свойствах.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПЦР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

Цыганко Е.В., Исламова Е.Н, Панина Е.Ю.

Лаборатория клинической микробиологии и ПЦР-диагностики МУ ГКБ №40, г. Екатеринбург

Введение. Гнойные бактериальные менингиты (ГБМ) – это инфекционные заболевания, характеризующиеся тяжелым течением и серьезными последствиями. Наибольший уровень заболеваемости наблюдается среди детей дошкольного возраста. Протоколы терапии ГБМ различной этиологии не одинаковы, следовательно, для успешного лечения необходимо в кратчайшие сроки идентифицировать возбудителя (Sam W.I. et al., 2000). Эффективное решение этой задачи классическими методами – бактериологическим (Б) и методом латекс-агглютинации (ЛА) – не всегда возможно в связи с длительностью исполнения (Б) и невысокой чувствительностью (Б, в меньшей степени ЛА). Дополнение классических методов ПЦР-диагностикой позволяет существенно повысить эффективность выявления возбудителя ГБМ, особенно в случаях применения антибиотиков на догоспитальном этапе (Sam W.I. et al., 2000; Платонов А.Е. и др., 1999).

Определение распространенности возбудителей ГБМ и их вариантов (серотипов, геновариантов) имеет большое значение для эпидемиологического надзора и прогнозирования, как на региональном уровне, так и в масштабах страны и мира (Платонов А.Е. и др., 2000).

Целью данной работы было изучить распространенность на Среднем Урале возбудителей ГБМ, а также сравнить эффективность различных методов диагностики ГБМ.

Материалы и методы. За период с марта 2009 г. по сентябрь 2010 г. в лаборатории ПЦР-диагностики МУ ГКБ №40 было исследовано 68 образцов ликвора (СМЖ) от пациентов из Екатеринбурга и Свердловской области, поступивших в инфекционные отделения стационара больницы с диагнозами: ГБМ неясной этиологии, менингококкемия, менингококковая инфекция, менингоэнцефалит, менингит.