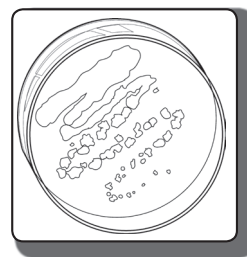


Инфекционные болезни, иммунология, иммунотерапия



УДК 616.2-02.6-053.2-078-084:578.097.3(571.62-25)

Г.Н. Холодок¹, Г.П. Евсева¹, Н.М. Ивахнишина¹, Ю.А. Гарбуз², Н.В. Морозова³, В.К. Козлов^{1,3}

АКТУАЛЬНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ В Г. ХАБАРОВСКЕ

¹Хабаровский филиал ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ ОМИД,
680022, ул. Воронежская, 49, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: hgn49@mail.ru;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае»,
680013, ул. Владивостокская, 9, тел. 8-(4212)-32-47-13, e-mail: glbuh@gorseskhv.ru;

³Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Резюме

Использование современного метода ПЦР-РПВ в режиме мультипраймерной детекции серологических вариантов *Streptococcus pneumoniae* позволило выявить спектр его серотипов в 2012–2013 гг. и динамику их циркуляции с 2007 года. Основной спектр составляют 8 серовариантов, 87,5 % из них принадлежит вакцинным штаммам и 73,7 % вариантам, имеющим клиническое значение в России – 19F, 6AB и 3. В 14 % случаев серотип не установлен. Не выявлен ранее циркулирующий в популяции 1-й серотип, установлено увеличение циркуляции 19-й серогруппы с 30,5 % до 44 % и 6-й серогруппы с 17 % до 21 %. Клинически значимый вакцинный серовариант 19F встречался в 2 раза чаще при респираторной патологии: в 53 % и 50 % случаев при внебольничной пневмонии и синуситах и в 22,7 % у носителей. Серогруппу 6AB в 1,9 чаще выявляли у носителей – в 22,7 % случаев, чем при пневмонии. Серотип 3, вызывающий тяжелые пневмонии, в 20 % случаев выявляли при пневмониях и в 13 % случаев – у носителей. До 2012 года серотип 3 выявляли только 5,8 % случаев у пациентов с неинвазивной инфекцией. Совпадение установленного спектра пневмококка с вакцинными штаммами позволяет предполагать эффективность плановой вакцинации, снижение носоглоточного носительства *S. pneumoniae* и заболеваемости детей пневмококковыми инфекциями.

Ключевые слова: пневмококк, серотипы, вакцинация, ПЦР, дети.

G.N. Kholodok¹, G.P. Evseeva¹, N.M. Ivakhnishina¹, Yu.A. Garbuz², N.V. Morozova³, V.K. Kozlov^{1,3}

SIGNIFICANCE OF PNEUMOCOCCAL VACCINATION IN Khabarovsk

¹Research Institute of Mother and Child Health Care;

²Center for Hygiene and Epidemiology in Khabarovsk Region;

³Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

Real-time multiprimer PCR detection of *Streptococcus pneumoniae* serovars was used to identify the entire spectrum of serotypes in 2012–2013 and the changes in circulation thereof since 2007. The principal spectrum consists of 8 serovars, vaccine strains accounting for 87,5 % and variants of clinical significance in Russia (19F, 6AB and 3) – for 73,7 % thereof. In 14 % of cases, a serotype was not identified. The 1st serotype formerly circulating in the population was not found, circulation was found to be increased in serogroup 19 from 30,5 % to 44 % and in serogroup 6 – from 17 % to 21 %. Clinically significant vaccine serotype 19F occurred at twice the rate in respiratory diseases – in 53 % and 50 % of cases in community-acquired pneumonias and sinusitis and in 22,7 % in disease agent carriers. Serogroup 6AB was detected 1.9 times more often in disease agent carriers than in pneumonic patients. Serotype 3 that causes severe pneumonias was found in 20 % of pneumonic patients and 13 % in disease agent carriers. Prior to 2012, serotype 3 had only been identified in 5,8 % of cases in

patients with noninvasive infection. Coincidence of the identified pneumococcal spectrum with the vaccine strains suggests efficiency of the scheduled vaccination, and a decrease in the nasopharyngeal *S. pneumoniae* carriage and the incidence rate of pneumococcal infection in children.

Key words: pneumococcus, serotypes, vaccination, PCR, children.

Болезни органов дыхания у детей преобладают в структуре детской патологии во всех странах мира. По данным ВОЗ, на сегодняшний день пневмония, или инфекционное заболевание легких, является основной причиной детской смертности в мире [8]. В возрасте до пяти лет от пневмонии погибает больше детей, чем от СПИДа, малярии и кори вместе взятых [9].

Младенческая смертность в Хабаровском крае в 2013 году составила 12,4 на 10 тыс. детей до года (8,2 в РФ), в структуре которой значимое место занимают болезни органов дыхания – 3,0 на 10 тыс. детей, родившихся живыми (в РФ 3,8). По данным официальной статистики показатели общей заболеваемости детей в Хабаровском крае по-прежнему превышают общероссийские. Важно отметить, что с 2010 года появилась тенденция к их снижению, и к 2013 году показатели уменьшились в 1,1 раза: с 2 667,7 до 2 416,2 на 1 000 детей в возрасте 0-14 лет (рис. 1).

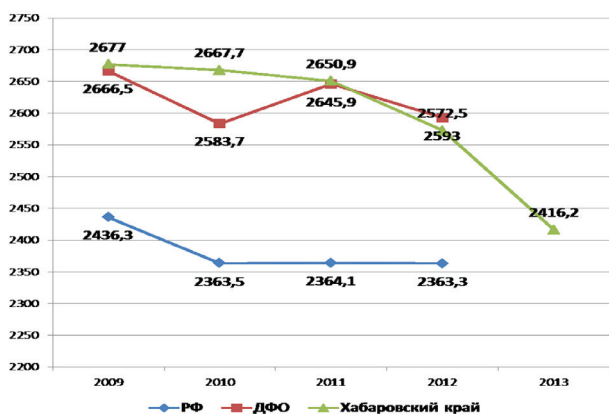


Рис. 1. Общая заболеваемость детей в возрасте 0-14 лет (на 1 000 детей)

Респираторная заболеваемость в структуре общей заболеваемости остается стабильно высокой и занимает лидирующее место, но при этом также выявляется некоторое ее снижение с 2009 года. Так у детей до 14 лет болезни органов дыхания составляли в 2009 году 1 523,1 на 1 000, в 2012 году – 1 491,1 на 1 000 и в 2013 году – 1 385,2 на 1 000 детей (в РФ в 2011 г. – 1261,2 на 1 000 и в 2012 году – 1 253,4 на 1 000 детей) (рис. 2).

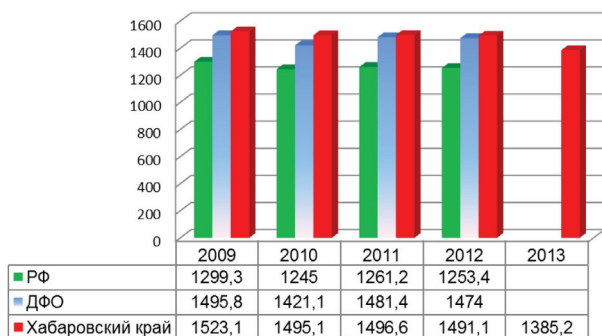


Рис. 2. Болезни органов дыхания у детей в возрасте 0-14 лет (на 1 000 детей)

В структуре общей заболеваемости детей в крае в 2013 году болезни органов дыхания составляли 56,9 % у детей в возрасте 0-14 лет (рис. 3) и 35,3 % у подростков 15-17 лет (рис. 4). Заболеваемость пневмонией снизилась с 16,3 на 1 000 детей до 14 лет в 2009 году до 11,8 на 1 000 в 2013 году, то есть в 1,4 раза (в РФ 9,1 на 1 000 детей в 2012 году) (рис. 5).

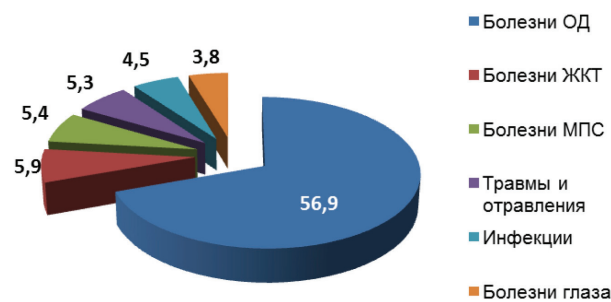


Рис. 3. Болезни органов дыхания в структуре общей заболеваемости у детей Хабаровского края в возрасте 0-14 лет в 2013 году (%)

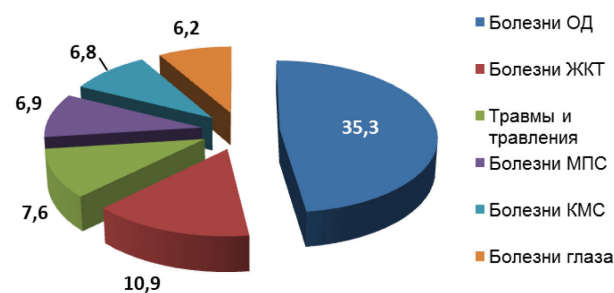


Рис. 4. Болезни органов дыхания в структуре общей заболеваемости детей в Хабаровском крае у подростков 15-17 лет в 2013 году (%)

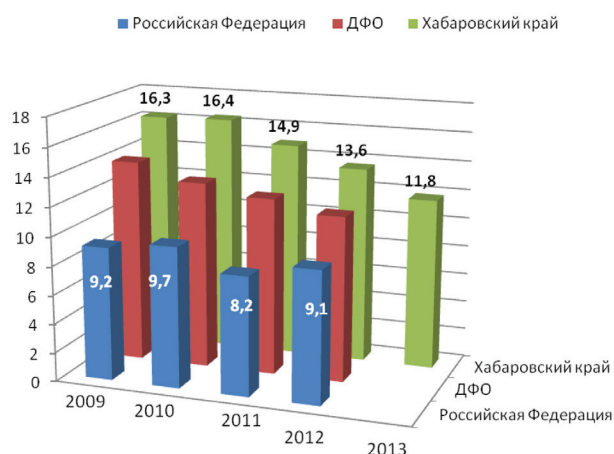


Рис. 5. Заболеваемость пневмонией на 1 000 детей 0-14 лет

Пневмококковые инфекции нижних дыхательных путей актуальны для детей и взрослых в пожилом возрасте. Пневмонии занимают одно из первых мест среди причин детской смертности. Доля смертности от пневмонии в России у детей до 5 лет составляет 6 %, тогда как в США, Канаде и в странах Европы не превышает

1 %. [5]. В большинстве случаев *S. pneumoniae* как возбудитель заболевания не всегда диагностируется. В результате данные по распространенности пневмококковой инфекции занижаются [2]. В странах, включивших вакцинацию против пневмококковой инфекции в национальный календарь прививок за 8-10-летний период достигнуто снижение заболеваемости у детей младше 5 лет на 70-80 %, а частота обращений в больницу с пневмонией у детей младше 2 лет снизилась на 39 % [1, 6].

Целью исследования стала оценка динамики циркуляции серологических вариантов *S. pneumoniae* в популяции детей Хабаровского края у носителей и пациентов с неинвазивной пневмококковой инфекцией – пневмонией и синуситом.

Материалы и методы

В период с ноября 2012 по ноябрь 2013 года нами изучены штаммы *S. pneumoniae*, изолированные у носителей (n=22), пациентов с внебольничной пневмонией (n=15) и острым синуситом (n=20). Бактериологические исследования проводили стандартными методами (Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985) в бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае» (заведующая Т.Н. Тригорлова). Исследовали трахеальный аспират и/или бронхоальвеолярные смывы, смыв из синуса, назофарингеальные мазки. Для бактериологического посева использовали сертифицированные питательные среды и реактивы отечественного производства: НПО «Микроген» (Махачкала, Пермь, Ставрополь), ГУП «Оболенский биотехнологический центр», ОАО «Биомед» (с. Петрово-Дальнее), НИИ-ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, ГНИИСК им. Л.А. Тарасевича, а также иностранного: агар Колумбия, трипказо-соевый агар, основу кровяного агара («БиоМерье», «Био-Рад»), Франция; «ХайМедиа», Индия), с добавлением 3-хкратно отмытых эритроцитов человека, инактивированной лошадиной сыворотки, ростовых факторов. Для идентификации *S. pneumoniae* применяли тест с 10% дезоксихолатом натрия, тест чувствительности к оптохину (диски с оптохином ООО «БиоМерье», Франция) и метод латекс-агглютинации с помощью наборов Slidex meningitis-kit («БиоМерье», Франция), Pastorex meningitidis *S. pneumoniae* («БиоРад», Франция). Чистую культуру штаммов *S. pneumoniae* хранили на среде Дорсе, первичали на среду трипказо-соевый бульон с добавлением глицерина и сохраняли при -70 °С. Перед исследованием сохраняемые штаммы рекультивировали на питательных средах.

Все 57 проб протестированы методом ПЦР в режиме реального времени с генами *lytA* и *psaA* в качестве мишеней. Все пробы дали истинно положительный сигнал. Экстракцию ДНК *S. pneumoniae* из бактериальной суспензии проводили согласно инструкции к комплекту реагентов «ДНК-сорб-АМ» фирмы «ИнтерЛабСервис» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. ПЦР в режиме реального времени проводили на термоциклере CFX 96 «Bio-Rad» (США), в формате «мультипрайм» в объеме 25 мкл. Для серотипирования *S. pneumoniae* были использованы праймеры, рекомендованные для серотипирования Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC,

США), приготовленные в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

В ранее проведенных нами исследованиях была показана высокая частота носоглоточного носительства *S. pneumoniae* у детей Хабаровского края – до 50 % установленная стандартными бактериологическими методами и до 90 % – с использованием метода ПЦР [4] (рис. 6, 7). Было доказано, что лидирующим возбудителем внебольничной пневмонии у детей в Хабаровском крае является *S. pneumoniae* с частотой детекции до 23 % у детей первого года жизни и 52-66 % у детей старше 1 года. У детей первого года жизни спектр возбудителей пневмонии характеризуется увеличением доли энтеробактерий (преимущественно *E. coli*). В популяции детей Хабаровского края в период до 2006 г. была выявлена циркуляция 8 серотипов *S. pneumoniae* (1, 3, 4, 5, 8, 14, 25, 37) и 5 серогрупп (6, 9, 19, 15, 23). Преобладающие серологические варианты *S. pneumoniae* принадлежали серотипу 1 и серогруппам 19 и 6. Носоглоточные штаммы были представлены только вышеуказанными серовариантами. Получено статистически значимое различие между частотой циркуляции клинических и носоглоточных штаммов пневмококка 19 серогруппы, чаще выявленной у носителей ($\alpha < 0,005$) и 1-го серотипа, преобладающего у больных ($\alpha < 0,05$) [3]. С 2007 по 2009 гг. установлено уменьшение частоты выявления 1-го серотипа *S. pneumoniae* с 32 до 9 %, сохранялась частота циркуляции 6-й серогруппы и увеличилось выявление 19-й серогруппы с 25 до 34 %.

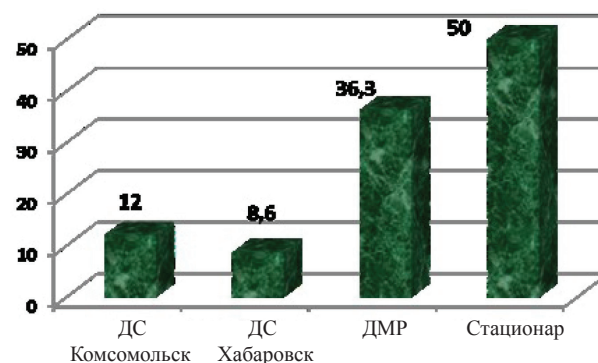


Рис. 6. Частота носоглоточного носительства *S. pneumoniae* у здоровых детей Хабаровского края в 2006 г. (бактериологический метод, %)

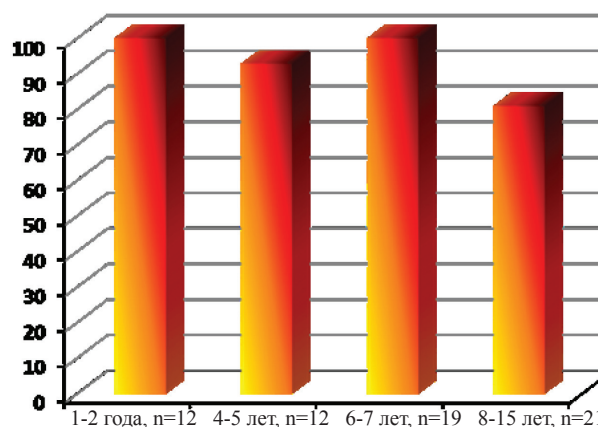


Рис. 7. Детекция *S. pneumoniae* у носителей методом ПЦР (%)

Результаты серотипирования 57 штаммов *S. pneumoniae* (абс.)

Серотип	Число штаммов	Тип заболевания и источник штамма		
		внебольничная пневмония (трахеальный аспират)	острый синусит (аспират из синуса)	носитель (мазок из носоглотки)
3	7	3	1	3
6BA	12	2	5	5
7AF	1	0	0	1
11AD	1	0	0	1
19F	23	8	10	5
19A	2	0	0	2
18	1	0	0	1
23F	2	1	0	1
Не определен (ПЦР на серотипы отр.)	8	1	2	5
Всего	57	15	18	24

Изученные в настоящем исследовании штаммы *S. pneumoniae* имели некоторые фенотипические различия (размер колоний, характер гемолиза, чувствительность к оксациллину). По данным молекулярно-генетического исследования выявлено 8 серовариантов/групп *S. pneumoniae*, 87,5 % из которых принадлежит вакцинным штаммам и 73,7 % основным вариантам, имеющим клиническое значение в России – 19F, 6AB и 3 (рис. 8). Один штамм сероварианта 11AD, выделенный от носителя, не принадлежал к вакцинным. В 14 % случаев (у 8 из 57 штаммов) серотип не был установлен, то есть в использованной нами тест-системе не оказалось соответствующих праймеров.

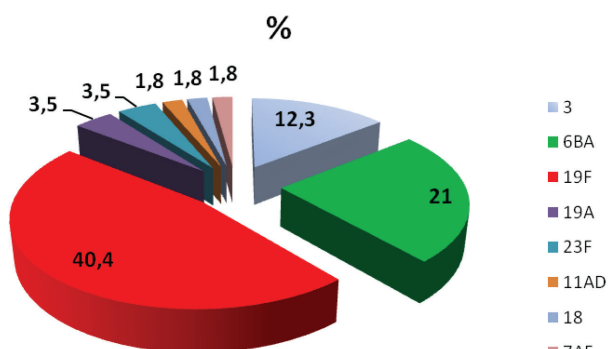


Рис. 8. Спектр серовариантов *S. pneumoniae*, выявленный у детей в Хабаровском крае в 2012–2013 гг. (%)

Установлено дальнейшее снижение циркуляции 1-го серотипа пневмококка. Если в период с 2007 по 2009 гг. мы отмечали снижение его циркуляции до 8 %, то в настоящем исследовании мы не выявили ни одного штамма пневмококка 1-го серотипа.

Установлено увеличение циркуляции 19-й серогруппы с 34 % (2009 г.) до 44 % (2012–2013 гг.) и 6-й серогруппы с 17 % до 21 % в эти же периоды.

В настоящем исследовании удалось получить новые данные по региональным серотипам *S. pneumoniae*, совпадающим с вариантами, входящими в состав пневмококковой вакцины последнего поколения «Превенар 13».

Обращает внимание высокая частота выявления вакцинного штамма серотипа 19F (40,4 %): из 25 выделенных штаммов 19-й серогруппы 23 принадлежат серотипу 19F и 2 – 19A. Все эти штаммы, как и серогруппу 6AB, ассоциируют с резистентностью и полирезистентностью пневмококка, серотип 19A считают особенно вирулентным [7]. Данные факты в определенной мере подтверждают установленные нами ранее повышенные показатели резистентности пневмококка [3].

Выявленные сероварианты присутствуют во всех изученных группах: и у носителей, и при респираторной патологии (таблица). Клинически значимый вакцинный серовариант 19F встречался в 2 раза чаще при респираторной патологии: в 53 % случаев при внебольничной пневмонии, в 50 % – при синуситах и в 22,7 % – у носителей. Достоверного различия частоты его выявления при патологии и у носителей не установлено ($p=0,06$), что обусловлено вероятно малой выборкой. В то же время штамм 19A, характеризующийся повышенной устойчивостью к пенициллину обнаруживали только у носителей в 9 % случаев.

Серогруппу 6AB выявляли у носителей и при неинвазивной пневмококковой инфекции в 22,7 % случаев, в 1,9 раз чаще, чем при пневмонии. Напротив, серотип 3, вызывающий тяжелые, в том числе некротические пневмонии, с относительно высокой частотой выявлялись при пневмониях – в 20 % случаев и достаточно часто – в 13 % случаев у носителей. До 2012 года серотип 3 мы выявляли редко – только 5,8 % случаев у пациентов с неинвазивной инфекцией.

Таким образом, установленный спектр серологических вариантов *S. pneumoniae* у носителей и больных респираторной патологией в г. Хабаровске, характеризуется преобладанием 3 вариантов – 19F, 6AB и 3, в целом составляющих 73,7 % всех полученных штаммов.

Серотипы 19F и 3 выявляли преимущественно у пациентов с внебольничной пневмонией, 6AB – у носителей и при неинвазивной инфекции (синусит). Важно отметить, что принадлежность выявленных изолятов *S. pneumoniae* к штаммам, ассоциированным с устойчивостью к пенициллину, в определенной мере объясняет уровень резистентности пневмококка в г. Хабаровске, превышающий аналогичный показатель в западных регионах России.

Выводы

С 2009 года отмечена положительная динамика показателей респираторной заболеваемости, в том числе пневмонией у детей в Хабаровском крае, чему способствовало проведение ряда организационно-методических мероприятий, в том числе начало внедрения активной вакцинации детей против пневмококковой инфекции в Хабаровском крае.

Применение современных методов молекулярно-генетической диагностики – ПЦР-РПВ в режиме мультипраймерной детекции позволяет расширить спектр выявляемых серовариантов *S. pneumoniae*, определить их клиническое значение и проводить оценку эффективности вакцинации против пневмококковой инфекции.

В период 2012–2013 гг. установлена циркуляция 8 серовариантов *S. pneumoniae* у носителей и детей с неинвазивной пневмококковой инфекцией, 87,5 % из них принадлежит вакцинным штаммам и 73,7 % вариантам, имеющим клиническое значение в России – 19F, 6AB и 3. В 14 % случаев серотип не установлен.

Не выявлен ранее циркулирующий в популяции 1-й серотип, установлено увеличение циркуляции 19-й серогруппы с 30,5 % до 44 % и 6-й серогруппы с 17 % до 21 %.

Клинически значимый вакцинный серовариант 19F встречался в 2 раза чаще при респираторной патологии: в 53 % и 50 % случаев при внебольничной пневмонии и синуситах, соответственно, чем у носителей в – 22,7 % случаев. Серогруппу 6АВ в 1,9 раза чаще выявляли у носителей – в 22,7 % случаев, чем при пневмонии.

Установлено увеличение частоты циркуляции 3-го серотипа *S. pneumoniae*, вызывающего тяжелые пнев-

монии: в 20 % случаев его выявляли при пневмониях и в 13 % случаев у носителей. До 2012 года серотип 3 выявляли только 5,8 % случаев у пациентов с неинвазивной инфекцией.

Совпадение установленного спектра пневмококка с вакцинными штаммами позволяет предполагать эффективность плановой вакцинации, дальнейшее снижение носоглоточного носительства инвазивных и резистентных серовариантов *S. pneumoniae* и дальнейшее снижение заболеваемости детей пневмококковыми инфекциями.

Литература

1. Баранов А. А., Намазова Л. С., Таточенко В. К. Пневмококковые инфекции и связанные с ней заболевания – серьезная проблема современного здравоохранения // Журн. педиатрич. фармакология. – 2008. – Т. 5, № 1. – С. 28-33.
2. Федосенко М. В. Перспектива вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции: современный взгляд на проблему // Российский медицинский журнал. – 2009. – Т. 1. – С. 36-41.
3. Холодок Г. Н. Микробиологические и патогенетические аспекты внебольничной пневмонии у детей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 41 с.
4. Этиология бронхолегочных заболеваний у детей в Хабаровском крае / Г. Н. Холодок, И. Н. Алексеева, Н. В. Морозова и соавт. // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2006. – № 7. – С. 28-31.
5. Life tables for WHO Members States. Russian Federation. – 2009. – Режим доступа: <http://www.who.int> (дата обращения 09.04.2014).

6. Pneumococcal Vaccine Works on Virulent Strains IDWeek 2013: Abstract 443. Presented October 3, 2013. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/index.php?article=2365> (дата обращения 10.04.2014).
7. Ralf R. Reinert, Michael R. Jacobs, Sheldon L. Kaplan Pneumococcal diseases caused by serotype 19A: Review of the literature and implications for future vaccine development // Vaccine. – 2010. – Vol. 28. – P. 4249-4259.
8. WHO, Pneumonia Fact Sheet. – Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/en/index.html> (дата обращения 10.04.2014).
9. WHO Global, regional and national causes of child mortality. – 2011. – Режим доступа: <http://www.ons.gov.uk/ons/rel/vsob1/child-mortality-statistics-childhood-infant-and-perinatal/2011/index.html> (дата обращения 10.04.2014).

Literature

1. Baranov A. A., Namazova L. S., Tatchenko V. K. Pneumococcal infections and associated diseases – a serious problem of modern healthcare // Journal of Pediatric Pharmacology. – 2008. – Vol. 5, № 1. – P. 28-33.
2. Fedoseyenko M. V. Prospects of preventive vaccination against pneumococcal infection: a modern insight into the problem // Russian Medical Journal. – 2009. – Vol. 1. – P. 36-41.
3. Kholodok G. N. Microbiological and pathogenic aspects of community-acquired pneumonia in children: synopsis of thesis of a doctor of med. science. – M., 2012. – 41 p.
4. Kholodok G. N., Alexeyeva I. N., Morozova N. V., et al. Etiology of bronchopulmonary diseases in children in the Khabarovsk Region // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. – 2006. – № 7. – P. 28-31.

5. Life tables for WHO Members States. Russian Federation. – 2009. – Mode of access: <http://www.who.int> (access date 09.04.2014).
6. Pneumococcal Vaccine Works on Virulent Strains IDWeek 2013: Abstract 443. Presented October 3, 2013. – Mode of access: <http://www.antibiotic.ru/index.php?article=2365> (access date 10.04.2014).
7. Reinert R. R., Jacobs M. R., Kaplan S. L. Pneumococcal diseases caused by serotype 19A: Review of the literature and implications for future vaccine development // Vaccine. – 2010. – Vol. 28. – P. 4249-4259.
8. WHO, Pneumonia Fact Sheet, October 2013. – Mode of access: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/en/index.html> (access date 10.04.2014).
9. WHO Global, regional and national causes of child mortality. – 2011. – Mode of access: <http://www.ons.gov.uk/ons/rel/vsob1/child-mortality-statistics-childhood-infant-and-perinatal/2011/index.html> (access date 10.04.2014).

Координаты для связи с авторами: Холодок Галина Николаевна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории комплексных методов исследований бронхолегочной и перинатальной патологии ХФ ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ ОМИД, тел.: +7-914-548-78-55, 8-(4212)-30-09-75, e-mail: hgn49@mail.ru; Евсеева Галина Петровна – д-р мед. наук, ученый секретарь ХФ ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ ОМИД; Ивахнишина Наталья Михайловна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник ХФ ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ ОМИД; Гарбуз Юрий Алексеевич – главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», тел. 8-(4212)-32-47-13; Морозова Нина Викторовна – канд. мед. наук, доцент кафедры педиатрии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93; Козлов Владимир Кириллович – д-р мед. наук, член-корр. РАМН, профессор, заведующий кафедрой педиатрии ДВГМУ, директор ХФ ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН – НИИ ОМИД, тел. 8-(4212)-98-02-15.