

Раздел IV

КООРДИНАЦИЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.
МЕДИЦИНСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ. ЭКОНОМИЧЕСКИЕ И ЮРИДИЧЕСКИЕ
ВОПРОСЫ МЕДИЦИНЫ

УДК 616.24-002; 355.4

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ
НЕИНВАЗИВНЫХ ШТАММОВ *S.PNEUMONIAE*

А.В. МАРТЫНОВА, В.Б. ТУРКУТЮКОВ*

Несмотря на достигнутые успехи, заболеваемость пневмококковой инфекцией остается актуальнейшей проблемой медицины вплоть до настоящего времени: при регистрируемых ежегодно в мире около 20 млн пневмококковых пневмоний, смертельным исходом заканчивается 1,05 млн случаев; смертность от пневмококковых менингитов составляет по оценкам различных авторов около 75 тысяч человек в год [1–6]. Инфекционный процесс, вызванный *Streptococcus pneumoniae*, возбудителем пневмококковых инфекций, может проявляться у пациента различными нозоформами, при этом принято выделять инвазивные и неинвазивные формы инфекции, однако до сих пор вопрос эпидемиологии неинвазивных форм пневмококковых инфекций (к которым относятся такие заболевания пневмококковой этиологии как отит, синусит, этмоидит, фронтит и пр.) остается мало изученным. Более того, фактически эпидемическое состояние по заболеваемости неинвазивными формами пневмококковых инфекций, таких как фронтит, синусит, этмоидит и других, у детей до 5 лет, предполагает циркуляцию эпидемического клона *S.pneumoniae*, диагностировать которую можно только методами молекулярно-эпидемиологического мониторинга.

Цель исследования – проведение молекулярно-эпидемиологического мониторинга штаммов пневмококка, выделенных у больных неинвазивными формами инфекции и обосновать противоэпидемические мероприятия.

Материалы и методы. Были проанализированы 80 случаев микробиологически диагностированных неинвазивных пневмококковых инфекций (98 штаммов пневмококка). Штаммы были исследованы на чувствительность к антибактериальным химиопрепаратам (пенициллин, эритромицин, тетрациклин, клиндамицин, левофлоксацин) диско-диффузионным и методом серийных разведений согласно стандартам NCCLS. Серотипирование было проведено с серотиповыми сыворотками (SSI, Copenhagen, Denmark). Методом молекулярно-эпидемиологического мониторинга был выбран гель-электрофорез в пульсирующем поле (PFGE) [7], который был проведен согласно общепринятой процедуре, рестрикция проводилась ферментом *SmaI* (с использованием оборудования CHEF-DR II (Bio-Rad)) в течение 20 часов при температуре 14°. Компьютерная обработка изображения была проведена с использованием системы Bio-Rad Gel Doc 1000 system (Bio-Rad), полученное изображение анализировалось при помощи компьютерного пакета программ Bionumerics software (Applied Maths). Дендрограммы строились методом подсчета среднего арифметического, коэффициента Dice (оптимизированного до 1%). Таким образом, PFGE типы были определены как группы генетически связанных между собой клонов, отличающихся при фотоиндикации не более чем по трем параметрам. Таким образом, штаммы, отличающиеся друг от друга на 84%, считались принадлежащими к одному PFGE типу. Далее полученные данные сверялись с данными Molecular Epidemiology Network (ATCC), и сравнивались с контрольными штаммами Spain^{23F}-1; ATCC 700670, Spain^{6B}-2; ATCC 700671, France^{9V}-3 [Spain^{9V}-3]; ATCC 51916, Tennessee^{23F}-4; ATCC 700672, Spain¹⁴-5; ATCC 700673, Hungary^{19A}-6; ATCC 700674, South Africa^{19A}-7; ATCC 700675, South Africa^{6B}-8; ATCC 700676, England¹⁴-9; ATCC 700677, Slovakia [CSR, Czech Republic]¹⁴-10; ATCC 700678, Slovakia [CSR]^{19A}-11; ATCC 700903, Finland^{6B}-12; ATCC 700904, South Africa^{19A}-13; ATCC 700905, Taiwan^{19F}-14; ATCC 700906,

Taiwan^{23F}-15. Статистическая обработка полученных данных велась с применением коэффициента Фишера.

Результаты. При ретроспективном анализе 80 случаев микробиологически диагностированных неинвазивных пневмококковых инфекций (98 штаммов пневмококка) в различных возрастных группах, мы выделили следующую повозрастную структуру: дети до 14 лет (28 случаев), подростки от 14 до 18 лет (12 пациентов), взрослые от 18 до 55 лет (17 случаев), пациенты ЛОР-отделения Госпиталя Ветеранов (23 случая). Мужчины и женщины составили соответственно 43 и 37 человек.

Среди 98 штаммов было выделено 28 генотипов, причем по 1 штамму из каждого генотипа было выделено только в 5 случаях, по 3 штамма было выделено в 5 различных генотипах, 12 генотипов содержали 4 штамма, 6 генотипов содержали по 5 штаммов пневмококков (во всех случаях клональное родство составило более 80%). Была обнаружена сильная корреляция между источником выделения штамма и принадлежностью к тому или иному PFGE типу. Все штаммы, выделенные из отделимого, полученного из среднего уха, принадлежали к PFGE типу 3 и PFGE типу 2, тогда как штаммы, выделенные из крови и других, в норме стерильных жидкостей, принадлежали к PFGE типу 5 и PFGE типу 4. При проведении нами кластерного анализа, выделенные нами PFGE типы были клонально связаны с теми или иными уже описанными штаммами, данные о которых можно найти в Pneumococcal Molecular Epidemiology Network (PMEN): PFGE тип 5 был клонально родственен изоляту Tennessee^{23F}, а PFGE тип 7 был клонально связан с изолятом England¹⁴, что подчеркивает его принадлежность к одному и тому же источнику. Внутри 19 из выделенных нами 28 PFGE генотипов, 90% штаммов принадлежали к одинаковой серогруппе; внутри 8 генотипов 90% штаммов принадлежали к одинаковому серотипу, что также подтверждает тот факт, что в нашем регионе циркулирует эпидемический клон *S.pneumoniae*. Исследования устойчивости к антибактериальным химиопрепаратам не выявили определенной закономерности, однако стоит отметить значительное число штаммов, устойчивых к эритромицину, – 21,4% (21/98) – и к левофлоксацину – 8,3% (8/98).

Выводы. Проведенный молекулярно-эпидемиологический мониторинг является принципиально новой схемой обследования больных неинвазивными формами пневмококковых инфекций в нашем регионе. До настоящего времени, данная схема описана только в зарубежной литературе, и практически не применялась для обследования больных неинвазивными формами пневмококковых инфекций. Согласно полученным нами данным, в нашем регионе сложилась ситуация по формированию устойчивого эпидемического клона *S.pneumoniae*, что приведет в дальнейшем к появлению эпидемической заболеваемости, и, как следствие, потребует более интенсивных противоэпидемических мероприятий против пневмококковой инфекции.

Литература

1. Козлов М.Я. Острые отиты у детей и их осложнения.– Л.: Медицина, 1986.– 232 с.
2. Козлов П. С. и др. // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.– 2002.– № 4 (3).– С. 267–277.
3. Козлов П.С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее. Смоленск: СГМА, 2005.–128 с.
4. Сидоренко С.В. // Антибиотики и химиотерапия.–1998.– Т.43, №7.– С.3–5
5. Яковлев С.В. // Антибиотики и химиотерапия.– 1999.– Т. 44, №5.– С.3–5.
6. Bartlett J.G. et al. // Clin.Infect.Dis.– 1998.– Vol.26.– P.811–838.
7. McEllistrem M.C. et al. // J Clin Microbiol.– 2000.– Vol.38.– P.3513.

* Владивосток, Острякова 2, Владивостокский государственный медицинский университет, кафедра эпидемиологии. Тел.: (4232)–429632