

Титов Л. П., Давыдов А. В., Хархаль А. Н., Шиманович В. П.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ИНВАЗИВНЫМИ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
г. Минск, Республика Беларусь*

Инвазивные бактериальные заболевания (ИБЗ) являются серьезнейшей проблемой здравоохранения в мировом масштабе, включая и Республику Беларусь. К ним относятся менингиты, бактериемия и сепсис различной этиологии. Бактериальный менингит является наиболее значимым, поскольку представляет собой угрожающее жизни состояние, требующее быстрого распознавания и своевременного лечения [1]. Ежегодно в мире регистрируется более 1,2 млн случаев бактериальных менингитов; показатели заболеваемости и летальности колеблются в зависимости от региона, страны, конкретного патогена и возрастной группы. При отсутствии лечения летальность может достигать 70%, а у каждого пятого выжившего могут возникать серьезные осложнения, включая тугоухость, неврологические расстройства и др. [2]. Ежегодно в Беларуси регистрируется около 200 случаев менингитов бактериальной этиологии, летальность составляет 5-10%.

В последние десятилетия в мире произошел существенный прогресс в области иммунопрофилактики менингококковой, пневмококковой и гемофильной инфекций. В результате этого заболеваемость и летальность населения в определенных странах существенно снизилась, но при этом отмечается изменение

генетической структуры возбудителей. Эпидемиологический надзор в довакцинальный период за возбудителями ИБЗ, относящимися к категории целевых в плане вакцинации, требует постоянного и более глубокого изучения. Лабораторная служба страны играет важнейшую роль в данной системе и требует соответствия международным стандартам, включая контроль качества исследований. В Беларуси в последние 5 лет налажена система молекулярно-генетического мониторинга возбудителей ИБЗ (детекция возбудителей в образцах биологического материала, идентификация чистых культур возбудителей, определение серо-, генотипов возбудителей, эпидемиологических и филогенетических связей, распространения на территории страны, основных трендов в резистентности возбудителей к антибиотикам).

Материалом для исследования явились 73 штамма возбудителей ИБЗ (менингококк, пневмококк, гемофильная палочка) и 310 образцов биологического материала (85,5% СМЖ и 14,5% сыворотка или плазма крови), полученные от пациентов с подозрением на ИБЗ, и направленные в период январь 2013 г. – декабрь 2015 г. лечебно-профилактическими учреждениями страны в Республиканскую референс-лабораторию по диагностике ИБЗ, и сопроводительная документация к ним¹.

Культивирование, бактериологическая и молекулярная идентификация культур микроорганизмов, молекулярное типирование для определения серотипов выполнялись в полном соответствии с практикой, описанной в руководстве 2011 г. по лабораторной диагностике менингитов Всемирной организации здравоохранения и Центров по контролю и профилактике заболеваний США [3]. Экстракция ДНК из образцов биологического материала выполнялась сорбентным методом с использованием центрифужных силика-колонок. Детекция возбудителей в ПЦР-РВ осуществлялась путем амплификации генов-мишеней, разработанных и валидированных для использования с образцами ДНК, выделенной из клинического материала (СМЖ и кровь), а также из бактериальных изолятов. Для детекции и идентификации менингококка использовался ген супероксиддисмутазы *Cu/Zn (sodC)*, пневмококка – ген аутолизина (*lytA*), гемофильной палочки – ген *hpd*, кодирующий, липопротеин *D* наружной мембраны. Для контроля выделения ДНК из образцов биологического материала, дегградации ДНК и присутствия ингибиторов ПЦР использовали специфическую реакцию ПЦР-РВ на ДНК человека, детектирующую фермент РНКазы *P*. Молекулярное типирование возбудителей с целью определения серотипов выполнялось в традиционной ПЦР для пневмококка и в ПЦР-РВ для гемофильной палочки и менингококка, в соответствии с современными схемами типирования [4].

При исследовании полученных культур, образцов биологического материала и сопроводительной документации к ним, установлено, что за период январь 2013 г. – декабрь 2015 г. всего в референс-лаборатории подтверждено микробиологически 120 случаев ИБЗ. Из них, в 51 случае (42,5%) этиологическим агентом являлся менингококк, в 53 случае (44,2%) – пневмококк, в 16 случаях (13,3%) –

¹ Референс-лаборатория РНПЦ эпидемиологии и микробиологии выражает благодарность руководителям и сотрудникам опорных баз за плодотворное сотрудничество и представление биологического материала.

гемофильная палочка. Из 120 описанных случаев, 60 случаев (50,0%) приходится на детей в возрасте до 5 лет, 14 случаев (11,7%) – на детей в возрасте от 5 до 18 лет, 39 случаев (32,5%) – на лиц 18 лет и старше. Полученными данными подтверждается, что возрастная группа детей до 5 лет является наиболее восприимчивой группой риска развития бакменингитов и прочих ИБЗ.

Этиологическая структура лабораторно подтвержденных случаев ИБЗ значительно варьирует в зависимости от возраста пациентов. В младшей возрастной группе детей до 5 лет наиболее значимым этиологическим агентом является менингококк и обеспечивает наибольшую долю случаев – 46,7% (28/60), что статистически значимо отличается от таковых пневмококка (17/60 случаев, 28,3%, $p < 0,05$) и гемофильной палочки (15/60 случаев, 25,0%, $p < 0,05$). В возрастной группе детей от 5 до 18 лет равновероятно ИБЗ вызываются пневмококком (7/14 случаев, 50,0%) и менингококком (7/14 случаев, 50,0%). У взрослых пациентов достоверно чаще ИБЗ вызывает пневмококк (24/39 случаев, 61,5%), чем менингококк (14/39, 35,9%, $p < 0,05$) и гемофильная палочка (1/39, 2,6%, $p < 0,05$).

При анализе серотиповой структуры популяции циркулирующих инвазивных пневмококков установлено, что наиболее распространенными (доминирующими) серотипами являются 14-й (14 из 49 штаммов, 28,6%), 19F (10 из 49 штаммов, 20,4%), 23F (5 из 49 штаммов, 10,2%) и 1-й (3 из 49 штаммов, 6,1%). Данные четыре серотипа обуславливают около двух третей всех случаев инвазивной пневмококковой инфекции в Беларуси (всего 32 из 49 штаммов, 65,3%). Остальные серотипы пневмококка (общее число которых превышает, как минимум 11) распространены реже (выявлено по 1-2 штамма из 49, 2,0-4,1%). Таким образом, серотиповая структура популяции инвазивных пневмококков, выявляемых в Беларуси, характеризуется достаточно широким генетическим разнообразием (15 серотипов среди 49 штаммов). Оценивая структуру в возрастных группах (рис. 1), видно, что имеются некоторые различия в распространенности отдельных серотипов. Так, 14-й серотип в группе пациентов 0-5 лет встречается с частотой 46,7% (7/15 штаммов), в то время как в группе >5 лет – реже, с частотой 20,6% (7/34 штаммов). В группе пациентов >5 лет к 23F серотипу были отнесены 5/34 штаммов (14,7%), в то время как в группе 0-5 лет – 0/15 штаммов (0,0%). Вместе с тем, серотиповая структура пневмококков, выделенных от детей до 5 лет с инвазивными формами пневмококковой инфекции, характеризуется относительно высокой однородностью и преимущественно представлена серотипами 14, 19F, 9V/9A, 6A/6B и 1-м, что на 80-87% соответствует спектру серотипов конъюгированных вакцин. Серотиповый состав инвазивных пневмококков, выделенных от детей старше 5 лет, характеризуется высоким разнообразием с циркуляцией как вакцинных (14-й, 19F, 23F, 1-й, 3-й, 19A, 6A/6B, 7F/7A), так и невакцинальных серотипов (6C/6D, 12F/12A/12B/44/46, 17F, 22F/22A, 24F/24A/24B, 35A/35C/42), что определяет более низкие уровни соответствия в 59-79% спектру серотипов конъюгированных вакцин.

В результате выполнения серогенотипирования 42 штаммов *N.meningitidis* был определен серогрупповой состав циркулирующих в Беларуси и вызывающих менингококковую инфекцию (МИ) штаммов менингококка (рис. 2).

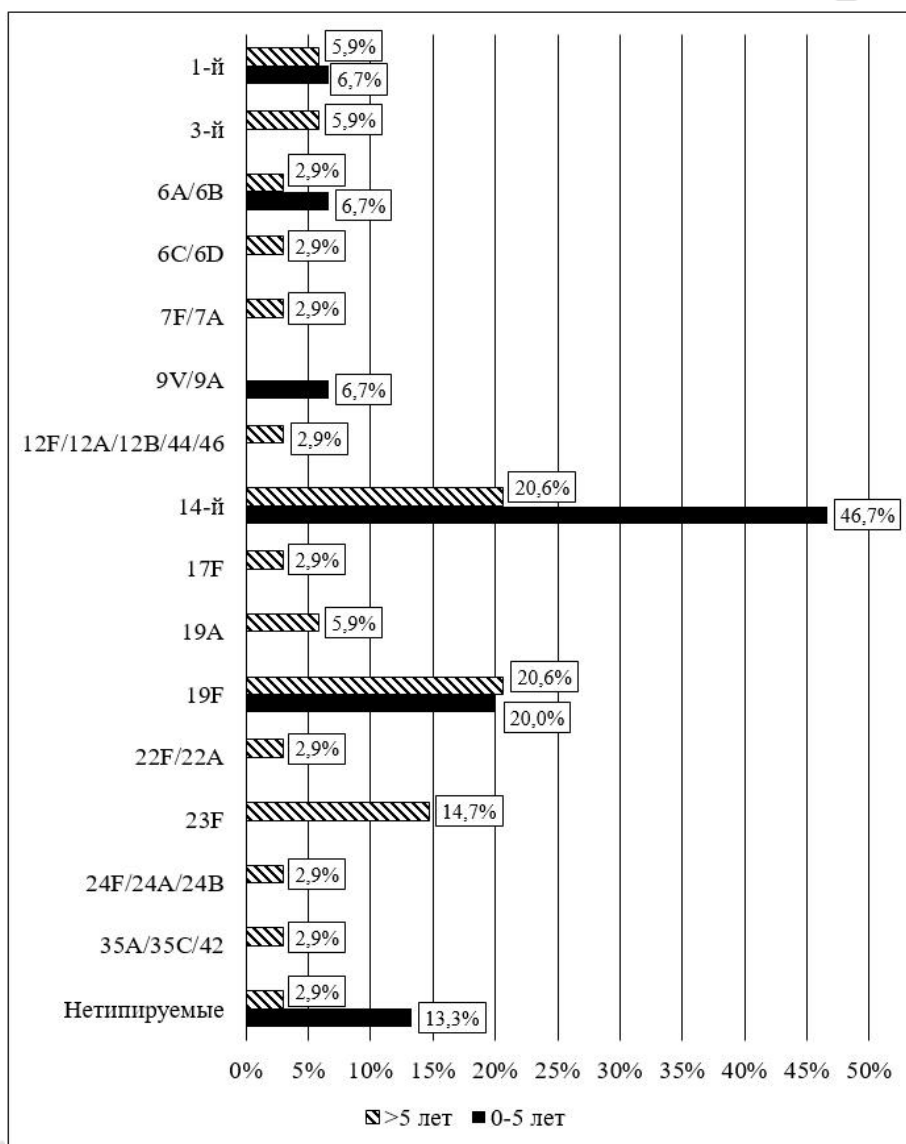


Рис. 1. Серотипы инвазивных пневмококков в разных возрастных группах

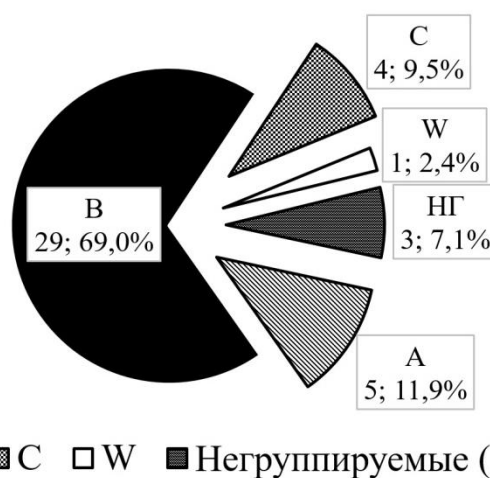


Рис. 2. Серогрупповая структура менингококков, выделенных от пациентов с менингококковой инфекцией

Наиболее часто причиной МИ являлись штаммы серогруппы В, которые обнаруживались с частотой 69,0% (29/42 штаммов). Остальные серогруппы менингококка реже вызывали МИ, серогруппа А обнаруживалась в 11,9% случаев (5/42 штаммов), серогруппа С – в 9,5% (4/42 штаммов), серогруппа W – в 2,4% случаев (1/42 штаммов). Негруппируемые в ПЦР менингококки вызывали МИ в 3/42 случаев (7,1%).

В результате выполнения серогенотипирования 15 штаммов *H. influenzae* был определен серотиповый состав циркулирующих в Беларуси инвазивных штаммов гемофильной палочки. Все 15/15 (100%) исследованных штаммов были отнесены к серотипу *b*, что свидетельствует о том, что в настоящее время в Беларуси инвазивные формы гемофильной инфекции (менингит, сепсис) вызываются только возбудителем серологического типа *b*.

Совершенствование эффективности системы эпидемиологического надзора за инвазивными бактериальными заболеваниями во многом зависит от внедрения в стране международного опыта его организации и использования современных (более чувствительных и специфичных) методов выявления патогенов в материале от пациентов, их идентификации, генетического типирования и оценки чувствительности к антибиотикам. Полученные в результате исследования данные о генетической структуре возбудителей ИБЗ – пневмококков, менингококков и гемофильной палочки соответствуют современным международным стандартам. Вместе с тем, необходимо более четкая и тесная работа бактериологов и клиницистов медицинских учреждений страны для обеспечения своевременного забора биологического материала, проведения посевов и быстрой доставки образцов в референс-лабораторию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Титов, Л. П.* Менингококковая инфекция: современное состояние проблемы / Л. П. Титов // Здравоохранение. 2010. № 12. С. 15-23.
2. *Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide* / P.B. McIntyre [et al.] // Lancet. 2012. Vol. 380, N 9854. P. 1703-1711.
3. *Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae* WHO/IVB.11.09; WHO MANUAL, World Health Organization. 2nd ed. WHO, 2011. 311 p.
4. *Revisiting pneumococcal carriage by use of broth enrichment and PCR techniques for enhanced detection of carriage and serotypes* / M. Carvalho [et al.] // J. Clin. Microbiol. 2010. Vol. 48, N 5. P. 1611-1618.