

СЕРОПЕЙЗАЖ ШТАММОВ *S.PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ПНЕВМОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В Г. МИНСКЕ

Тарашкевич Н.В., Шило Р.В.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Актуальность. Распространенность пневмококковых инфекций во многих регионах мира неизвестна. Это обусловлено недостаточным проведением лабораторных тестов у госпитализированных больных (менее чем у 50%).

В странах, где исследования проводились, показано, что заболеваемость зависит от возраста. Это продемонстрировано в США [4]: заболеваемость для детей 6-11 мес. – 235 на 100 000, от 0-12 мес. – 165 на 100 000, с 12-23 мес. – 203 на 100 000, старше 7 лет – 6,1 на 100 000. Заболеваемость пациентов 45-64 лет – 2,8-10,1 на 1000, старше 65 лет – 18 на 1000, причем в этой возрастной группе пневмония с бактериемией в 10-60% приводит к летальному исходу. В Европе показатель заболеваний, обусловленных *S.pneumoniae*, варьирует от 10 до 100 на 100 000 населения, у людей 65 лет составляет 61 на 100 000.

Ежегодно от пневмококковой инфекции в мире умирает более 1,5 миллиона человек, в том числе 716 тыс. детей в возрасте до 5 лет и, в основном, младше 2 лет [4]. Таблица 1 демонстрирует количество смертей, которых можно было бы избежать вакцинацией.

В странах СНГ частота инвазивных пневмококковых заболеваний точно не известна. Предполагают, что ее распространенность не отличается от США.

По данным В.К. Таточенко, у 88% из 281 ребенка, госпитализированного с пневмонией, выявлен пневмококк, что сравнимо с данными США.

Цель работы – отработка методики Мультиплекс ПЦР-серотипирования; определение серотипов *S.pneumoniae*, выделенных от больных с диагнозами пневмония, отит, находящихся на лечении в стационарах города Минска, Республика Беларусь.

Таблица 1

Количество смертей, которые можно предотвратить вакцинацией, данные за 2003 год (WHO Global Immunization Vision and Strategy, April 2005)

Инфекция	Дети младше 5 лет	Дети старше 5 лет	Всего
Полиомиелит	<100	1,000	1,000
Гепатит В	1,000	599,000	600,000
Дифтерия	4,000	1,000	5,000
<i>N. meningitidis</i>	10,000	16,000	26,000
Столбняк	198,000	15,000	213,000
Коклюш	293,000	1,000	294,000
<i>H. influenzae B</i>	386,000	0	386,000
Ротавирусная инфекция	402,000	47,000	449,000
Корь	480,000	50,000	530,000
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	716,000	896,000	1,612 000

Материалы и методы

Использованная методика - Мультиплекс ПЦР-серотипирование.

2.1 Забор биологического материала

Для выделения ДНК *S.pneumoniae* с последующим определением серотипа, серогруппы производился забор крови, мокроты, гнойного содержимого среднего уха. Биоматериал забирался у пациентов 9-ой и 2-ой взрослых и 3-ей детской городских клинических больниц г. Минска согласно строгим

нормативам по забору и транспортировке. После доставки штаммов в лабораторию проводилось их субкультивирование, накопление культуры и проверка чистоты.

2.2 Мультиплекс ПЦР-серотипирование

Для постановки Мультиплекс ПЦР-серотипирования мы придерживались протокола, предложенного Centers for Disease Control and Prevention (CDC), с использованием латиноамериканской клинической панели (Таблица 2) [3].

Таблица 2

Латиноамериканская панель. Порядок сетов и определяемые в них серотипы

Номер сета п/п	Определяемые серотипы
1	6, 9V, 14, 19A, 23F
2	6, 6C
3	3, 15B, 17F, 18, 19F
4	1, 5, 7F, 9N, 16F
5	2, 4, 8, 20, 22F
6	7C, 10A, 11A, 12F, 23A
7	13, 15A, 21, 33F, 35F
8	23B, 35A, 35B, 38, 39
9	10F, 24, 31, 34

Анализ результатов производили с помощью электрофореза на 2% агарозном геле в TBE буфере при 100 V в течение 1,5 часов. Гель окрашивали бромидом этидия. Визуализацию результатов электрофореза проводили в УФ-свете на приборе гель-документации. Размеры продуктов ПЦР определялись путем сравнения с молекулярным стандартом (50 bp ladder; Fermentas).

Полученные научные результаты. При проведении данного исследования получены первые результаты о циркулирующих серотипах *S.pneumoniae* в г. Минске (таблица 3).

Заключение

В ходе данного исследования отработана методика постановки Мультиплекс ПЦР-серотипирования. Полученные результаты доказали возможность успешного использования данной методики для серотипирования *Streptococcus pneumoniae* в Республике Беларусь.

Было доказано отношение 7 образцов пневмококка к серотипу 19F и одного к серотипу 14.

Таблица 3

Результаты Мультиплекс ПЦР-серотипирования

Страна	Культура	Результат ПЦР, включая серотип
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 14
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F
Республика Беларусь, г. Минск	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.pneumoniae</i> serotype 19 F

Определена дальнейшая необходимость проведения Мультиплекс ПЦР-серотипирования *S.pneumoniae* для установления серопейзажа в РБ, с целью дальнейшего выбора эффективной современной пневмококковой вакцины, которая будет включена в республиканский календарь иммунизации населения.

Литература

1. World Health Organization. «Laboratory methods for the diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*» (2nd edition). // 2011. 104с.
2. Sylvia H. Yeh, Alejandra Gurtman, David C. Hurley, Stan. L. Block, Richard H. Schwartz, Scott Patterson, Jack Love, Emilio Emini «Immunogenicity and Safety of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Infants and Toddlers». // 2011. 278с.
3. <http://www.cdc.gov/streplab/pcr.html> - официальный сайт CDC (Center for Disease Control and Prevention), дата последнего обращения – 28.09.2014 г.
4. Харит С.М. Пневмококковая инфекция и ее профилактика // Санкт-Петербург. 2009. 56с.
5. Gray B.M. Pneumococcal microbiology and immunity // 2002. - №31. 233-240.