

Буландо В.Д., Тонко О.В.

МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Тонко О.В.

*Кафедра клинической микробиологии, лабораторной диагностики и эпидемиологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

Актуальность. Пневмококковая инфекция протекает в виде различных типов инфекций: бронхиты, средние отиты, конъюнктивиты, синуситы и др. Наиболее тяжелыми и потенциально опасными для жизни являются инвазивные пневмококковые инфекции, обуславливающие чаще всего менингит и сепсис. До 2025 г. вакцинация от пневмококковой инфекции не входила в Национальный календарь прививок Республики Беларусь для детей не из групп риска, кроме того, несмотря на то, что в последние годы в стране налажена система молекулярно-генетического мониторинга инфекционных заболеваний, на данный момент не существует коммерческого набора тестов для проведения молекулярно-генетического серотипирования пневмококка.

Цель: разработать метод определения генотипа *S. pneumoniae* с последующим установлением серотипового пейзажа, циркулирующих штаммов среди госпитализированных детей.

Материалы и методы. Материалом для исследования являлись 26 изолятов *S.pneumoniae*, выделенных из ушей, мокроты, крови и ликвора, от пациентов, госпитализированные в период 2023-2024 гг. Определение генотипа проводилось методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Выделение ДНК из образцов проводилось с помощью набора по выделению ДНК «НУКЛЕОСОРБ» ФОРМА «С», для выделения ДНК из культур микроорганизмов. Процедуре выделения ДНК предшествовала пробоподготовка, применяемая для культур в жидкой питательной среде. Для подтверждения того, что исследуемые образцы являются пневмококком, в качестве мишеней для ПЦР-обнаружения были выбраны специфичные для *S.pneumoniae* ген *lytA*, кодирующий аутолизин и ген *crpA*, кодирующий биосинтез капсульных полисахаридов. В качестве праймеров и зондов были использованы специально синтезированные последовательности нуклеотидов, характерные для серотипов 15A/15F, 18C/18A/18B/18F, 16F, 19A, 19F, 23F,3,4,5, 6A/6B/6C/6D, 7F/7A, 9V/9A, 9L/N, 11A/11D, 12F/12A/12B/44/46,14.

Результаты и их обсуждение. Был проведен анализ литературных источников 2009-2023 гг., изучены существующие методы типирования. подобраны последовательности олигонуклеотидов, соответствующие наиболее часто встречающимся серотипам пневмококка. Всего было исследовано 26 изолятов, из них в результате молекулярно-генетического типирования 6 пневмококков отнесены к нетипируемым, 7 изолятов - к 19 F серотипу, 6 - к 3 серотипу, по 2 изолята пневмококка принадлежали к серотипам 5 и 19A и 3 пневмококка – к серотипу 23F. В результате проведенных исследований разработана и внедрена в работу УЗ ГДИКБ Инструкция по применению «Молекулярно-генетический метод серотипирования *Streptococcus pneumoniae*».

Выводы. Таким образом, разработанный метод может быть использован в диагностических, эпидемиологических, профилактических целях в лабораториях, использующих методы молекулярной биологии научно-практических учреждений, учреждений здравоохранения и центров гигиены и эпидемиологии. Несмотря на то, что доминирующие серотипы входят в состав вакцин, должен проводиться своевременный анализ серотипового пейзажа пневмококка для своевременной регистрации его изменений на фоне рутинной иммунизации населения пневмококковыми вакцинами.