

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2010

*К.О. Миронов, Т.А. Тагаченкова,
А.Е. Платонов, М.Л. Яковенко,
И.С. Королева, Г.А. Шипулин*

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БАКТЕРИЙ *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* СЕРОТИПА b, ВЫЗЫВАВШИХ ГНОЙНЫЙ МЕНИНГИТ У ДЕТЕЙ В МОСКВЕ В 2007 — 2009 ГГ.

Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

Цель. Генетическая характеристика 37 штаммов и образцов СМЖ, содержащих ДНК *Haemophilus influenzae* серотипа b, выделенных на территории Москвы в 2007 — 2009 гг. **Материалы и методы.** Использован метод мультилокусного секвенирования-типирования, также апробирован вариант методики определения типа капсулы. **Результаты.** В исследованной выборке найдено 10 сиквенс-типов, 7 из которых были описаны в предыдущих исследованиях, 3 впервые выявлены при проведении работы. Наиболее часто встречались ST-6 и ST-92 — выявлено по 9 (24%) Hib. Все выявленные сиквенс-типы, за одним исключением, входят в клональный комплекс «ST-6» («A1/A2»). Проведено сопоставление полученных данных с результатами типирования московских штаммов Hib, выделенных в 1999 — 2001 гг. Генетические изменения в исследуемой популяции Hib выражаются в уменьшении доли Hib, принадлежащих ST-6, с 54 до 24% и увеличении количества выявляемых сиквенс-типов клонального комплекса «ST-6», отличающихся от ST-6 более чем по одному локусу аллельного профиля с двух (2 штамма, 5,4%) до пяти (9 штаммов, 24%). **Заключение.** В период 2007 — 2009 гг. заметно увеличилось количество Hib с сиквенс-типом ST-95 (7, 19%), типичного для штаммов, циркулирующих на территории России. У 32 (86,5%) исследованных образцов обнаружен тип капсулы I, у 5 (13,5%) — тип капсулы II. Тип капсулы II встречался только у Hib с сиквенс-типом ST-80.

Журн. микробиол., 2010, № 4, С. 3—8

Ключевые слова: *Haemophilus influenzae* серотипа b, Hib-менингит, метод мультилокусного секвенирования-типирования, тип капсулы, Россия

*K.O. Mironov, T.A. Tagachenkova,
A.E. Platonov, M.L. Yakovenko,
I.S. Koroleva, G.A. Shipulin*

GENETIC CHARACTERISTICS OF *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYPE b ISOLATED FROM CHILDREN WITH BACTERIAL MENINGITIS IN MOSCOW IN 2007 — 2009

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Aim. Genetic characterization of 37 strains and CSF samples containing DNA of *Haemophilus influenzae* type b isolated in Moscow during 2007 — 2009. **Materials and methods.** Multilocus sequence-typing method was used and also variant of method for capsule type determination was aprobatated. **Results.** Ten sequence types, of which 7 were described in previous studies and 3 were revealed for the first time during this work, were detected in studied sample. ST-6 and ST-92 were the most frequently detected — 9 strains (24%) of Hib belonging to each sequence type were revealed. All detected sequence types, except one, belong to clonal complex «ST-6» («A1/A2»). Obtained data were compared with results of typing of Hib strains isolated in Moscow in 1999 — 2001. Genetic changes in studied population of Hib are characterized by decreased proportion of Hib belonging to ST-6 (from 54% to 24%) and increased number of sequence types belonging to clonal complex «ST-6» differing from ST-6 on more than one locus of allelic profile (from 2 types [2 strains, 5.4%] to 5 types [9 strains, 24%]). **Conclusion.** In 2007 — 2009, number of Hib strains with sequence type ST-95 (7 strains, 19%), which is typical for strains circulating in Russia, is markedly increased. Capsule type I was detected in 32 (86.5%) of studied strains, whereas capsule type II — in 5 (13.5%) of studied strains. Capsule type II was detected only in Hib strains with ST-80 sequence type.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2010, No. 4, P. 3—8

Key words: *Haemophilus influenzae* type b, Hib-meningitis, multilocus sequence-typing method, capsule type, Russia

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии *Haemophilus influenzae* серотипа b (Hib) являются частыми возбудителями гнойных бактериальных менингитов (ГБМ) у детей в возрасте до 5 лет. Доля Hib-менингитов составляет от 10 до 55% всех бактериальных менингитов в этой возрастной группе. Бактерии Hib способны также вызывать воспалительные заболевания респираторного тракта; описаны случаи сепсиса, вызванного Hib. Согласно недавно проведенным исследованиям, Hib-инфекция вносит заметный вклад в детскую смертность от инфекционных заболеваний в России [2, 6].

Для эпидемического процесса Hib-инфекции характерна спорадическая заболеваемость. В то же время, показатель заболеваемости на разных территориях может варьировать. Согласно исследованиям, проведенным в регионах России, заболеваемость Hib-менингитом колеблется от 2 до 20 случаев на 100 тыс. детей до 5 лет [5, 6]. На территории Москвы ежегодно наблюдается около 20 случаев Hib-менингита; заболеваемость в 1999 — 2001 гг. составляла 5,7 случаев на 100 тыс. детей до 5 лет [4]. Различный уровень заболеваемости Hib-менингитом, по-видимому, не связан с особенностями микробиологии штаммов, выделяемых на разных территориях. В то же время, нельзя исключать возможность генетических изменений, приводящих к возникновению штаммов с повышенными патогенными свойствами. Микробиологический мониторинг патогенных микроорганизмов, способных вызывать тяжелые инфекционные состояния, является важной задачей системы эпидемиологического надзора за ГБМ.

Использование в эпидемиологической практике молекулярно-биологических методов типирования позволяет выявлять генетические особенности штаммов и, тем самым, отслеживать эволюционные изменения в бактериальной популяции, циркулирующей на наблюдаемой территории. Удобным методом генетической характеристики бактерий вида *H. influenzae* является метод мультилокусного секвенирования-типирования (МЛСТ). Проведение МЛСТ основано на секвенировании фрагментов генов, кодирующих цитоплазматические ферменты. Метод позволяет сопоставить полученные результаты с характеристиками ранее изученных штаммов, опубликованными в глобальной базе, доступной через Интернет; оценить степень генетического

родства штаммов; судить об эволюционных изменениях или их отсутствии у микроорганизмов, выделяемых в разные годы [1, 8, 9].

Альтернативными методами типирования бактерий являются методы, основанные на характеристике генов, кодирующих факторы вирулентности микроорганизма. Изучение генетических особенностей, связанных с вирулентными свойствами микроорганизма, важно для понимания патогенеза, различий в течении и возникновении той или иной клинической формы Hib-инфекции, а также для анализа случаев неэффективности вакцинопрофилактики. Опубликованы подходы, дискриминирующие штаммы Hib в зависимости от особенностей генов (групп генов), связанных с продукцией капсульного полисахарида. В отличие от МЛСТ данные методы не являются общепринятыми подходами, используемыми при проведении микробиологического мониторинга. Schouls L. et al. было проведено секвенирование генов, вовлеченных в синтез и экспорт на поверхность бактерии капсульного полисахарида Hib (полирибозилрибитолфосфата), и на основании анализа полученных нуклеотидных последовательностей обнаружено присутствие в популяции Hib двух типов капсулы, обозначенных авторами как тип I и тип II [11]. Биохимическими и иммунологическими методами доказано, что с капсулой типа I ассоциирована увеличенная продукция капсульного полисахарида. Это, в свою очередь, защищает бактерию от лизиса системой комплемента, активирующегося по антитело-зависимому классическому пути. Мониторинг штаммов Hib, циркулирующих на территории Голландии, продемонстрировал, что штаммы с капсулой типа II составляли около 5% штаммов, изолированных от детей моложе 5 лет с инвазивными формами Hib инфекции в 1983 — 1995 гг., но отсутствовали в 1996 — 2006 гг., то есть после введения программы по вакцинопрофилактике Hib. Штаммы с капсулой типа II выделяли преимущественно в странах Америки (до начала массовой вакцинации против Hib) и Африки. Сделано предположение о возможных эволюционных преимуществах и повышенной вирулентности штаммов, имеющих капсулу типа I [11].

Цель исследования — генетическая характеристика Hib, выделенных на территории Москвы в 2007 — 2009 гг. Задачи исследования заключались в характеристике

бактерий методом МЛСТ в сопоставлении с результатами типирования штаммов Hib, выделенных в 1999 — 2001 гг., а также в тестировании усовершенствованной нами методики для детекции типа капсулы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено исследование 12 штаммов и 25 образцов спинномозговой жидкости (СМЖ), собранных в период 2007 — 2009 гг. на базе КИБ № 1 и КИБ № 2 Москвы. Исследуемый материал был получен от больных ГБМ Hib-этиологии в возрасте от 6 месяцев до 7 лет. Подробная информация об исследованных образцах внесена в базу данных МЛСТ *H.influenzae* <http://haemophilus.mlst.net/>.

Для выделения ДНК из образцов СМЖ и детекции специфических фрагментов ДНК Hib были использованы наборы «РИБО-преп» и «АмплиСенс® *N.meningitidis/H.influenzae/S.pneumoniae-FL*» производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии. МЛСТ проводили в соответствии с общепринятой схемой, предложенной Meats E. et al. [9], с модификациями, опубликованными ранее [1, 3]. Для обозначения аллелей, сиквенс-типов и сопоставления результатов типирования с данными, полученными другими авторами, использованы программные возможности Интернет-ресурса <http://haemophilus.mlst.net/>. На момент окончания исследования база данных <http://haemophilus.mlst.net/> включала в себя результаты типирования более тысячи штаммов бактерий вида *H.influenzae*, в том числе 345 штаммов серотипа b (136 сиквенс-типов). Результаты типирования обрабатывались с помощью программы «START2» [J]. Обозначение клональных комплексов проведено в соответствии с [1, 9].

Определение типа капсулы проводилось методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РПВ) с использованием разработанных нами праймеров и зондов, представленных в табл. 1. При выборе олигонуклеотидов использованы референсные нуклеотидные последовательности генов, связанных с продукцией капсульного полисахарида DQ368334 (тип II) и DQ368335 (тип I), представленные в GenBank. Постановка ПЦР-РПВ проводилась на приборе «Mx3000P» («Stratagene», США) по программе: 95°C — 15 минут (1 цикл); 95°C — 10 сек., 60°C — 30 сек., 72°C — 10 сек. (45 циклов), с детекцией флуоресцентного сигнала на стадии 60°C. ПЦР проводили в объеме 25 мкл, компоненты реакции смешивались по схеме: смесь, содержащая

праймеры, зонды и нуклеотидтрифосфаты — 10 мкл; реактивы «Полимераза TaqF» — 0,5 мкл и «ОТ-ПЦР-смесь-2 FEP/FRT» — 4,5 мкл («АмплиСенс», Россия); исследуемый образец, содержащий ДНК Hib — 10 мкл. Концентрации праймеров — 7 пмоль и зондов — 2,5 пмоль в реакцию. В качестве метода сравнения использована оригинальная методика [11] с незначительными модификациями.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании типирования ДНК штаммов и ДНК, содержащейся в исследованном клиническом материале (СМЖ), с помощью МЛСТ определены сиквенс-типы Hib. Типированным микроорганизмам в базе данных <http://haemophilus.mlst.net/> присвоены идентификационные номера с 1007 по 1043.

Среди тестируемых штаммов и образцов СМЖ, содержащих Hib, найдено 10 сиквенс-типов, 7 из которых были известны ранее: ST-6, ST-80, ST-92, ST-93, ST-95, ST-469 и ST-563. Впервые выявлены сиквенс-типы ST-649, ST-650 и ST-651 (табл. 2). Аллельный профиль ST-651 образован не встречавшейся ранее комбинацией известных аллелей. Новые нуклеотидные последовательности генных фрагментов найдены у штамма «BRM830K/08» (аллель *mdh-171*) и в образце СМЖ «BRM728P/08» (аллель *fucK-61*); им присвоены сиквенс-типы ST-649 и ST-650 соответственно.

Тип капсулы определялся по результату ПЦР-РПВ с праймерами и зондами, дифференцирующими I и II типы (табл. 1). С праймерами «HcsF» и «HcsR» амплифицируется фрагмент гена *hcsA* длиной 187 п.н. Зонды «HibZI» и «HibZII» специфичны для I и II типов капсулы соответственно. Участок отжига зондов «HibZI» и «HibZII» находится в области посадки праймеров «HiHcsA12667F-I» и «HiHcsA12668F-II», использованных для определения типа

Таблица 1. Праймеры и зонды, использованные в работе

Название	5'-3'-последовательность
HcsF	CAT-TGG-TGG-ATT-ATG-AGA-AAG-AAG-GT
HcsR	CCA-CTT-AAT-ACA-TCA-GGA-TGG-GTT-T
HibZI	(FAM) ACT-TGT-CAT-TGA-CCA-AAC-TTT-TGG-T (BHQ1)
HibZII	(R6G) TGC-TTG-TCA-TCG-ATC-AAA-CCT-TT (BHQ1)
HibZ	(ROX) CAT-CGG-CTT-GAC-CAT-ATT-TCA-C (BHQ2)

капсулы в [11]. Детекция продукта амплификации по каналу «FAM» свидетельствует о присутствии в анализируемом образце капсулы I типа, детекция продукта амплификации по каналу «JOE» — капсулы II типа. Специфичность и отсутствие перекрестных реакций зондов были подтверждены в экспериментах с тестированием проб, содержащих ДНК Hib I и II типов капсулы в высоких концентрациях. Для внутреннего контроля амплификации используется зонд «HibZ», общий для I и II типов капсулы. Детекция сигнала по каналу «ROX» свидетельствует о присутствии в анализируемом образце тестируемого фрагмента гена *hcsA*. Исследованные в данной работе штаммы были параллельно тестированы по разработанной нами методике и методике [11], дискордантных результатов получено не было. Чувствительность основанной на ПЦР-РПВ методики, оцененная на титровках ДНК, выделенной из штаммов Hib, оказалась на два порядка выше оригинальной методики [11], что создало возможность для типирования ДНК Hib, содержащейся в образцах клинического материала (СМЖ). Было показано, что большинство исследованных штаммов и образцов СМЖ (32; 86,5%) содержат ДНК I типа капсулы, II тип капсулы встречался реже (5; 13,5%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Среди типированных штаммов и клинических образцов СМЖ, содержащих Hib, наиболее часто встречались сиквенс-типы ST-6 и ST-92, которым принадлежало по 9 (24%) исследуемых штаммов и образцов СМЖ. Реже встречались ST-95 (7; 19%), ST-80 (5; 13,5%) и ST-563 (2; 5,4%), остальные сиквенс-типы были обнаружены однократно (2,7%). Применение стандартных подходов для обработки данных МЛСТ позволяет заключить, что типированные микроорганизмы неравномерно распределены по двум клональным комплексам, охарактеризованным в предыдущих исследованиях. Большинство выявленных сиквенс-типов объединяются в клональный комплекс «A1/A2» (обозначаемый также как «ST-6»); клональный комплекс «B1b» («ST-93») представлен единственным образцом с ST-93. Подобное распределение сиквенс-типов по клональным комплексам типично для штаммов Hib, выделенных ранее в России и за рубежом [1, 9, 10].

Выявлено 3 сиквенс-типа, которым соответствуют 18 изолятов (49%) Hib, входящих в ядро клонального комплекса «ST-6»,

Таблица 2. Генетические характеристики бактерий Hib, вызывавших гнойный менингит у детей в Москве

Сиквенс-тип Годы выдел.	Отличие от алл. проф: ST-6 (кол-во лок.)	2007—2009	2007—2009	1999—2001
		Кол-во изолятов	Генотип капс. по Schouls L.M. et al. [11]	Кол-во изолятов
ST-6	0	9	I	20
ST-92	1	9	I	8
ST-95	1	7	I	1
ST-80	3	5	II	1
ST-563	1	2	I	0
ST-469	2	1	I	0
ST-649	2	1	I	0
ST-650	2	1	I	0
ST-651	2	1	I	0
ST-78	1	0	I	4
ST-79	2	0	I	1
ST-94	1	0	I	1
ST-93	7	1	I	1

то есть имеющих отличие в аллельном профиле от центрального сиквенс-типа (ST-6) не более чем по 1 локусу; 4 сиквенс-типа (4 штамма; 11%) имеют отличия от ST-6 по 2 локусам, ST-80 (5 штаммов; 13,5%) — по 3 локусам. Наибольшим количеством генетически близких сиквенс-типов обладает ST-95, имеющий максимальное количество сиквенс-типов (ST-6, ST-469, ST-563 и ST-651), отличающихся от него по одному локусу аллельного профиля; эти четыре сиквенс-типа объединяют 13 (35%) изученных Hib.

Выявление трех новых сиквенс-типов не позволяет говорить о существенных генетических изменениях, наблюдаемых в исследуемой популяции Hib. Каждый из этих сиквенс-типов (ST-649, ST-650 и ST-651) отличается по двум локусам от аллельного профиля ST-6, то есть также входит в клональный комплекс «ST-6». ST-649 и ST-650 максимально близки к сиквенс-типу ST-92.

В табл. 2 приведено сравнение результатов типирования Hib, полученных в данном исследовании, и штаммов, циркулировавших на территории Москвы в 1999 — 2001 гг. [1, 3]. Обе изученные выборки имеют одинаковый объем и сходные эпидемиологические параметры: источник выделения Hib, длительность периода проведения микробиологического мониторинга, наблюдаемая территория; интервал между периодами наблюдения составляет 6 лет. Типированные в данном исследовании Hib от штаммов, выделенных в 1999 — 2001 гг.,

отличает большее генетическое разнообразие, что выражается в количестве выявленных сиквенс-типов (9 и 7 соответственно). Индекс разнообразия по Симпсону, рассчитанный согласно [7, 10], равнялся в 2007 — 2009 гг. 84%, а в 1999 — 2001 гг. — 66%. Для сравнения, индекс разнообразия для сиквенс-типов популяции *Hib* в Нидерландах в 1983 — 2002 гг. составлял порядка 40 — 48% [10], а индекс разнообразия для всех штаммов *Hib*, типированных методом МЛСТ в мире, превышает 90%.

Наблюдалась также тенденции к выходу обнаруженных сиквенс-типов из ядра клонального комплекса «ST-6» («A1/A2»). В 1999 — 2001 гг. только 2 штамма (5,4%) с ST-79 и ST-80 из штаммов, входивших в клональный комплекс «ST-6», имели отличия в аллельном профиле от ST-6 более чем по одному локусу, в данном исследовании таких изолятов *Hib* выявлено 9 (24%). В сумме в 2007 — 2009 гг. 19% выявленных аллелей были отличны от аллелей, образующих сиквенс-тип ST-6 (10, 14, 4, 5, 4, 7, 8); в 1999 — 2001 гг. таких было 10%. Доля *Hib* с сиквенс-типом ST-6 уменьшилась по сравнению с периодом 1999-2001 гг. в два раза: с 20 (54%) до 9 (24%), и в то же время заметно увеличилось количество *Hib*, принадлежащих ST-95 — с 1 (2,7%) до 7 (19%) и ST-80 — с 1 (2,7%) до 5 (13,5%). Уменьшение доли штаммов с сиквенс-типом ST-6 и увеличение количества *Hib* с сиквенс-типом ST-95 может свидетельствовать об особенностях российских штаммов *Hib*: из 15 штаммов сиквенс-типа ST-95, представленных в базе данных <http://haemophilus.mlst.net/>, 14 были выделены на территории России и только один за рубежом (Польша, 1997). В отличие от штаммов с сиквенс-типом ST-95, штаммы с сиквенс-типом ST-6 выделяли на территориях многих зарубежных стран; всего на момент окончания исследования в базе данных было представлено 87 штаммов с данным сиквенс-типом.

Сопоставление данных МЛСТ и результатов типирования капсульного гена *hcsA* позволяет сделать вывод, что в Москве тип II выявляется только у *Hib*, принадлежащих ST-80, все остальные сиквенс-типы ассоциированы с капсулой типа I. ST-80 отличается только на 1 аллель (*mdh-43* вместо *mdh-4*) от ST-53, штаммы с ST-53 имели капсулу типа II в голландском исследовании [11]. Также в Нидерландах капсулу типа II имели штаммы с ST-44, но подобных штаммов *Hib* в России не обнаружено.

Статистически значимых клинических и эпидемиологических особенностей *Hib*-инфекции, вызванной бактериями с ST-80 и капсулой типа II, не найдено.

Таким образом, популяция *Hib*-бактерий, выделяемых в последние годы от детей с ГБМ в Москве, характеризуется высокой степенью генетического разнообразия и определенными отличиями от штаммов, выделявшихся в Западной Европе и США. В 1999 — 2009 гг. в ходе эволюции популяции *Hib*-бактерий проявилась тенденция к усилению этих отличий. Присутствие бактерий с капсулой типа II среди клинических изолятов *Hib* характерно для ситуации, при которой массовая вакцинация детей против *Hib* не проводится.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов К.О., Платонов А.Е., Королева И.С., Шипулин Г.А. Генетические взаимоотношения московских и зарубежных штаммов *Haemophilus influenzae* серотипа b. Журн. микробиол. 2006, 6: 14-20.
2. Николаев М.К., Платонов А.Е. Инфекция, вызываемая *Haemophilus influenzae* серотипа b, и перспективы ее вакцинопрофилактики в России. Эпидемиол. инфекц. бол. 2009, 4: 25-33.
3. Платонов А.Е., Миронов К.О., Яцышина С.Б. и др. Характеристика московских штаммов *Haemophilus influenzae* типа b методом мультилокусного секвенирования-типирования. Мол. генет. микробиол. вирусол. 2003, 2: 21-25.
4. Платонов А.Е., Королева И.С., Платонова О.В. и др. Заболеваемость гнойными менингитами у детей в возрасте до 5 лет в Москве. Эпидемиол. инфекц. бол. 2006, 4: 36-43.
5. Платонов А.Е., Николаев М.К. Заболеваемость гнойными менингитами у детей в возрасте до 5 лет в регионах России. Там же. 2007, 3: 10-18.
6. Платонов А.Е., Николаев М.К., Королева И.С. и др. Проспективное популяционное изучение заболеваемости гнойными менингитами у детей в возрасте до 5 лет в 8 городах России. Там же. 2009, 4: 33-43.
7. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J. Clin. Microbiol. 1988, 26: 2465-2466.
8. Jolley K.A., Feil E.J., Chan M.S. et al. Sequence type analysis and recombinational tests (START). Bioinformatics. 2001, 17 (12): 1230-1231.
9. Meats E., Feil E.J., Stringer S. et al. Characterization of encapsulated and nonencapsulated *Haemophilus influenzae* and determination of phylogenetic relationships by multilocus se-

- quence typing. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41 (4): 1623-1636.
10. Schouls L.M., van der Ende A., van de Pol I. et al. Increase in genetic diversity of *Haemophilus influenzae* serotype b (Hib) strains after introduction of Hib vaccination in the Netherlands. *Ibid.* 2005, 43 (6): 2741-2749.
11. Schouls L.M., van der Heide H., Witteveen S. et al. Two variants among *Haemophilus influenzae* serotype b strains with distinct *bcs4*, *hcsA* and *hcsB* genes display differences in expression of the polysaccharide capsule. *BMC Microbiol.* 2008, 8: 35.

Поступила 08.12.09

Контактная информация: Миронов Константин Олегович,
111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а, ЦНИИЭ, р.т. 8(495)176-79-40

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

© Т.С.САЛТЫКОВА, 2010

Т.С.Салтыкова

ОТСРОЧЕННАЯ СМЕРТНОСТЬ ПРИ ГРИППЕ СРЕДИ ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

ММА им. И.М.Сеченова, Москва

Цель. Анализ заболеваемости и смертности включая отсроченную, связанную с гриппом, а также установление характера взаимосвязи между повышенной смертностью среди пожилых лиц и заболеваемостью гриппом. **Материалы и методы.** Использованы эпидемиологические методы исследования по данным форм № 2 и С51 по Москве за 1999 — 2005 гг. Проведен анализ 28 801 565 случаев заболевания гриппом, 41 310 случаев смерти от различных причин, из которых выделено 6048 случаев смерти от заболеваний сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Был проведен также ретроспективный эпидемиологический анализ многолетней и внутригодовой заболеваемости гриппом и смертности от этих заболеваний по Москве. Проведен корреляционный анализ с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена и коэффициента корреляции Пирсона. **Результаты.** Введено понятие отсроченной смерти. Доказано наличие отсроченной смертности при гриппе среди лиц старше 60 лет при ишемической болезни сердца, остром инфаркте миокарда и цереброваскулярных болезнях. Установлено, что вакцинация против гриппа лиц старше 60 лет с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией в эпидемический период может предотвратить 246 случаев смерти ежегодно. **Заключение.** Наличие отсроченной смерти отмечено только в группе лиц с сердечно-сосудистой патологией, в то время

T.S.Saltykova

DELAYED INFLUENZA MORTALITY IN ELDERLY PERSONS

Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow, Russia

Aim. Analysis of influenza morbidity and mortality including delayed mortality as well as study of the association between increased mortality in elderly and influenza incidence. **Materials and methods.** Epidemiologic methods of research as well as reporting forms No. 2 and C51 for Moscow for the period 1999 — 2005 were used. Analysis was performed for 28,801,565 cases of influenza illness as well as for 41,310 fatal cases, of which 6,048 cases due to cardiovascular and respiratory diseases were extracted. Retrospective epidemiologic analysis of perennial and within-year incidence of influenza and mortality due to mentioned diseases in Moscow was performed. Correlation analysis was done using Spearman rank correlation coefficient and Pearson correlation coefficient. **Results.** Delayed mortality concept was introduced. Existence of delayed mortality after influenza illness in persons >60 year old with ischemic heart disease, acute myocardial infarction and cerebrovascular disease was proved. It was established that vaccination against influenza in persons aged >60 years with underlying cardiovascular diseases during epidemic season could prevent 246 deaths each year. **Conclusion.** Delayed mortality was detected only in patients with cardiovascular diseases, whereas in patients with respiratory diseases direct complications due to influenza developed. Influenza immunization of elderly persons could yield marked economic effect as cost of treatment of one case of acute myocardial infarction or attack