

ЦНИИЭ организовать работу по оценке использования лабораторного оборудования, поставленного Роспотребнадзором на безвозмездной основе в государства-участники СНГ в 2006 — 2009 гг. в рамках выполнения обязательств «Группы восьми», предусмотрев проведение оценочных визитов и инспекционных проверок по согласованию с органами управления здравоохранением государств-участников СНГ, в которые поставлялось указанное оборудование; совместно с ЦНИИЭ подготовить предложения по оказанию технической помощи в укреплении лабораторной сети государств-участников СНГ в 2010 — 2012 гг. в рамках реализации распоряжения Правительства Российской Федерации от 2.10.2009 № 1426-р об участии Российской Федерации в инициативе «Группы восьми» по борьбе с тропическими заболеваниями; обеспечить правовое закрепление механизмов отчетности и оценки эффективности использования государствами-участниками СНГ российской технической помощи, оказываемой Роспотребнадзором в виде безвозмездной поставки лабораторного оборудования и

тест-систем в рамках участия Российской Федерации в международных инициативах по борьбе с инфекционными заболеваниями; подготовить предложения по реализации распоряжения Правительства Российской Федерации об участии Российской Федерации в международной деятельности по искоренению полиомиелита в 2011 — 2012 гг. в части оказания помощи государствам-участникам СНГ в укреплении лабораторной сети, подготовке специалистов и обеспечении вакциной против полиомиелита российского производства; подготовить предложения по организации совещания с руководителями служб, осуществляющих санитарно-эпидемиологический надзор в странах СНГ и Шанхайской организации сотрудничества, по созданию межгосударственной лабораторной сети для диагностики полиомиелита и ОВП, информационному обмену, подготовке квалифицированных кадров и обеспечению качества и эффективности эпидемиологического надзора с последующим заключением соответствующих соглашений и договоров о сотрудничестве.

Поступила 19.10.10

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2011

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

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ NEISSERIA MENINGITIDIS, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЗДОРОВЫХ НОСИТЕЛЕЙ В ОЧАГАХ МЕНИНГОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

Цель. Генетическая и антигенная характеристика штаммов *Neisseria meningitidis*, выделенных в очагах менингококковой инфекции от лиц, находящихся в контакте с больным генерализованной формой менингококковой инфекции. *Материалы и методы.* Исследованы

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

GENETIC CHARACTERISTICS OF NEISSERIA MENINGITIDIS STRAINS OBTAINED FROM HEALTHY CARRIERS DURING MENINGOCOCCAL INFECTION OUTBREAKS

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Aim. Genetic and antigenic characterization of *Neisseria meningitidis* strains isolated during meningococcal infection outbreaks from individuals in contact with patients with generalized form of meningococcal infection. *Materials and methods.* Strains obtained in 2007 — 2009 in

штаммы, выделенные в 2007 — 2009 гг. на территории Москвы при проведении обследования лиц, контактировавших с больным в очагах менингококковой инфекции. Используются методики мультилокусного секвенирования-типирования, генетического субтипирования и типирования фрагмента VR (FetA). **Результаты.** Информация об исследованных штаммах внесена в базу данных <http://pubmlst.org/neisseria/>. У 12 штаммов найдены не описанные ранее сиквенс-типы, у двух штаммов не удалось определить сиквенс-тип, и у двух штаммов отсутствовал фрагмент VR (FetA). Менингококки серогруппы А имели антигенный профиль «P1.5-2,10; F3-5» и принадлежали сиквенс-типам ST-75 и ST-3349, что не позволяет говорить об импорте на наблюдаемую территорию эпидемически значимых штаммов. Все типированные штаммы серогруппы С и один штамм серогруппы В входят в клональный комплекс «ST-41/44 complex/Lineage 3». Субтипы штаммов менингококков серогруппы С совпадают с субтипами, выявленными у штаммов, вызывавших генерализованные формы инфекции, в то время как у носительских штаммов серогруппы В антигенный профиль отличается от антигенного профиля штаммов, выделенных от больных. Негруппируемые штаммы отличаются высоким уровнем генетического и антигенного разнообразия: только для 6 из 16 штаммов (37,5%) удалось определить сиквенс-тип, обнаруженный ранее, все эти штаммы входят в клональный комплекс «ST-53 complex», объединяющий преимущественно носительские штаммы. **Заключение.** Соотношение между популяцией менингококков, циркулирующих среди населения Москвы, и субпопуляцией, способной вызвать генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ), различно для менингококков разных серогрупп. Негруппируемые штаммы, выделенные от носителей, значительно отличаются от штаммов, вызывающих ГФМИ.

Журн. микробиол., 2011, № 2, С. 22—29

Ключевые слова: *Neisseria meningitidis*, мультилокусное секвенирование-типирование, субтипирование, менингококковое носительство, Москва

ВВЕДЕНИЕ

Внутривидовая характеристика штаммов *Neisseria meningitidis* является важным инструментом, позволяющим отслеживать эволюционные изменения в бактериальной популяции. Характеристика выделяемых штаммов позволяет связывать случаи эпидемического небла-

Москву during examination of individuals that were in contact with patients during meningococcal infection outbreaks were analyzed. Multilocus sequence typing, genetic subtyping and typing of VR fragment (FetA) techniques were used. **Results.** Data regarding investigated strains were submitted to the database at <http://pubmlst.org/neisseria/>. Previously undescribed sequence types were found in 12 strains, sequence-type could not be determined in 2 strains, 2 strains lacked VR fragment (FetA). Serogroup A meningococci had «P1.5-2,10; F3-5» antigenic profile and belonged to ST-75 and ST-3349 sequence-type, these data does not support the emergence of epidemically significant strains in the territory under surveillance. All typed serogroup C strains and 1 serogroup B strain are of «ST-41/44 complex/Lineage 3» clonal complex. Subtypes of serogroup C meningococci strains match subtypes of strains that cause generalized forms of infection, while serogroup B strains isolated from the carriers and strains isolated from the patients had different antigenic profiles. Ungroupable strains had notably higher level of genetic and antigenic diversity: only 6 of 16 strains (37.5%) could be sequence-typed using earlier data, all these strains are of clonal complex «ST-53 complex» that consists mostly of strains isolated from the carriers. **Conclusion.** Ratio of meningococci population circulating in Moscow and subpopulation capable of causing generalized form of meningococcal infection (GFMI) is different for meningococci of various serogroups. Ungroupable strains isolated from the carriers are highly different from strains causing GFMI.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2011, No. 2, P. 22—29

Key words: *Neisseria meningitidis*, multilocus sequence-typing, subtyping, meningococci carriers, Moscow

получия с генетическими и антигенными свойствами этих штаммов, выявлять случаи возникновения или заноса на наблюдаемую территорию новых штаммов с целью своевременной идентификации штаммов с повышенными вирулентными свойствами. Для генетической и антигенной характеристики бактерий *N.me-*

ningitidis применяют серологические и молекулярно-биологические методы типирования. Последние рекомендации по проведению типирования штаммов *N.meningitidis* опубликованы в [9, 11], в отечественной литературе описание рекомендованных подходов и результаты их применения в эпидемиологической практике опубликованы в [2 — 4].

На сегодняшний день существует общепринятая международная номенклатура обозначения штаммов *N.meningitidis*, включающая генетические (сиквенс-тип, клональный комплекс) и антигенные (серогруппа, субтип, аллель фрагмента VR белка FetA) характеристики штамма. Разработанная схема обозначения позволяет объединять результаты типирования, полученные в разных лабораториях, через базу данных <http://pubmlst.org/neisseria/>. Для каждого результата типирования, публикуемого в базе данных, заполняется форма, содержащая эпидемиологические данные об источнике штамма.

В предыдущих исследованиях была показана генетическая и антигенная неоднородность штаммов *N.meningitidis*, выделенных в разное время на территории Москвы. Была выявлена связь периодов эпидемического неблагополучия с присутствием на территории штаммов с определенными генетическими и антигенными свойствами и показано их отличие от штаммов, выделяемых в межэпидемический период. На основании полученных данных проводится микробиологический мониторинг выделяемых штаммов [2, 3]. В последние годы показатель заболеваемости генерализованными формами менингококковой инфекции (ГФМИ) на территории Москвы не превышает 3 случаев на 100 000 населения. В то же время, нельзя исключить возможность появления на наблюдаемой территории штаммов с повышенными вирулентными свойствами. В связи с этим, особый эпидемиологический интерес представляют группы лиц, приехавших с других территорий, особенно при их совместном проживании. Цель данной работы — генетическая и антигенная характеристика штаммов *N.meningitidis*,

выделенных в очагах менингококковой инфекции от лиц, находящихся в контакте с больным ГФМИ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовано 45 штаммов *N.meningitidis*, выделенных в 2007 — 2009 гг. на территории Москвы при проведении обследования лиц, контактировавших с больным в 10 очагах менингококковой инфекции (МИ), а также при обследовании 2 контрольных групп на носоглоточное носительство *N.meningitidis*. Характеристика исследованных очагов и выделенных штаммов, методики забора и посева клинического материала, а также алгоритм идентификации полученных штаммов опубликованы в [5]. 32 из включенных в исследование штаммов были выделены в 5 очагах МИ, возникших в коллективах рабочих-строителей.

Исследованные штаммы принадлежали к серогруппам А (21 штамм; все они выделены в очагах МИ, возникших в строительных коллективах), В (5 штаммов) и С (3 штамма); 16 штаммов были негруппируемыми. Определение серогрупповой принадлежности исследуемых штаммов проводилось серологическим методом и с помощью ПЦР с использованием наборов и методик, описанных в [5].

Выделение ДНК, постановка ПЦР и детекция продуктов амплификации осуществлялись с использованием реагентов производства Центрального НИИ эпидемиологии («АмплиСенс»). Для определения нуклеотидных последовательностей использованы реактивы и оборудование фирмы «Applied Biosystems» (США). Последовательности праймеров и условия ПЦР для мультилокусного секвенирования-типирования, генетического субтипирования и определения аллеля фрагмента VR белка FetA опубликованы в [3, 4]. Были использованы также и альтернативные методики амплификации, рекомендованные разработчиками схемы типирования *N.meningitidis* и опубликованные на сайте <http://pubmlst.org/neisseria/>.

При обработке результатов секвенирования, обозначении аллелей, сиквенс-типов, клональных комплексов и при

анализе эпидемиологической информации использованы программные и информационные возможности Интернет-ресурса <http://pubmlst.org/neisseria/>. На момент окончания исследования (июнь 2010 г.) база данных <http://pubmlst.org/neisseria/> содержала информацию о 16607 штаммах *N.meningitidis* (7876 сиквенс-типов), из них 5754 штамма бы-

ли выделены от носителей (3289 сиквенс-типов).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведена генетическая характеристика всех штаммов, включенных в исследование (табл.). Определены сиквенс-типы у 43 штаммов, генетические субтипы (аллели VR1 и VR2) у всех 45 штаммов и аллель варибельного фрагмента VR бел-

Результаты типирования штаммов *N.meningitidis*, выделенных в очагах менингококковой инфекции

Штамм*	Серогруппа**	id***	VR1 (PorA)	VR2 (PorA)	VR (FetA)	ST (cc)****
M445car_A/07	A	11528	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M448car_A/07	A	11529	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M450car_A/07	A	11530	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M451car_A/07	A	11531	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M457car_A/07	A	11532	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M458car_A/07	A	11533	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M463car_A/07	A	11534	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M16.16_A/08	A	11541	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M16.19_A/08	A	11542	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M13.24_A/08	A	11543	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M13.44_A/08	A	11544	5-2	10	F3-5	ST-75 (cc1)
M619car_A/08	A	13168	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M621car_A/08	A	13169	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M629car_A/08	A	13170	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M636car_A/08	A	13171	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M737car_A/08	A	13172	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M741car_A/08	A	13173	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M742car_A/08	A	13174	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M743car_A/08	A	13175	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M746car_A/08	A	13176	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M766car_A/08	A	13177	5-2	10	F3-5	ST-3349 (cc1)
M453car_B/07	B	11537	5-1	10-1	F5-16	ST-6877 (cc174)
M762car_B/08	B	13178	21-2	28	F5-6	ST-7640 (cc41/44)
M848car_B/09	B	15048	7-4	1	F5-16	ST-8258 (-)
M849car_B/09	B	15050	22	14	F5-5	ST-1815 (cc213)
M850car_B/09	B	15051	7	16	F1-5	ST-8259 (-)
M446car_C/07	C	11535	17	16-4	F3-9	ST-6876 (cc41/44)
M447car_C/07	C	11536	18-1	34	F1-5	ST-3278 (cc41/44)
M933car_C/09	C	15052	17	16-4	F3-9	ST-3346 (cc41/44)
M452car/07	NG	11538	7	30	F1-2	ST-53 (cc53)
M460car/07	NG	11539	18-1	3	F3-6	ST-6878 (-)
M462car/07	NG	11540	7-2	30-3	F1-2	ST-931 (cc53)
M854car/09	NG	14664	21	Δ	F1-9	ST-8016 (-)
M551car/07	NG	15053	5-2	10-1	F5-5	ST-3342 (cc865)
M623car/08	NG	15054	5-1	10-8	F1-3	ST-8260 (-)
M630car/08	NG	15055	22	26	F1-5	ST-8261 (cc865)
M714car/08	NG	15057	7	30	F1-9	ST-53 (cc53)
M761car/08	NG	15058	18-1	3	F1-2	ST-8262 (cc53)
M855car/09	NG	15059	19	15	F5-2	ST-8263 (-)
M612car/07	NG	15060	7	30-2	F1-2	ST-53 (cc53)
M863car/09	NG	15061	18	25	F5-70	ST-8264 (cc198)
M930car/09	NG	15063	7	30-5	F1-2	ST-53 (cc53)
M622car/08	NG	15207	7-2	30-3	—	—
M847car/08	NG	15208	7	30-2	—	ST-53 (cc53)
M782car/08	NG	—	18	25-33	F5-70	—

Примечание. *Последние две цифры в названии штамма — год выделения; **NG — негруппируемые штаммы; *** идентификационный номер в базе данных <http://pubmlst.org/neisseria/>; **** сиквенс-тип и клональный комплекс, жирным шрифтом выделены впервые обнаруженные сиквенс-типы.

ка FetA у 43 штаммов. Полную генетическую характеристику, выполненную согласно рекомендациям Jolley K.A. et al. [11], удалось получить для 42 штаммов. В базу данных <http://pubmlst.org/neisseria/> внесена информация о 44 исследованных штаммах.

У 12 штаммов найдены не описанные ранее сиквенс-типы (табл.). Аллельные профили трех сиквенс-типов: ST-8258, ST-8259 и ST-8263 включают впервые выявленные аллели *fumC*-486, *fumC*-494 и *agoE*-543 соответственно. Аллельные профили остальных не описанных ранее сиквенс-типов содержат различные комбинации известных аллелей.

Сиквенс-тип не удалось определить у двух негруппируемых штаммов: «M622caг/08» и «M782caг/08». У штамма «M622caг/08» не удалось получить продукт амплификации фрагмента *abcZ*, у штамма «M782caг/08» — фрагмента *agoE*. При использовании протокола амплификации, рекомендованного разработчиками схемы мультилокусного секвенирования-типирования для бактерий рода *Neisseria*, с альтернативными парами праймеров «*abcZ*-P1C»/«*abcZ*-P2C» и «*agoE*-P1B»/«*agoE*-P2B» также не удалось амплифицировать фрагменты бактериальной ДНК, необходимые для секвенирования. Штамму «M622caг/08» присвоен идентификационный номер в базе данных <http://pubmlst.org/neisseria/>, штамм «M782caг/08» в базу данных отправлен не был.

У штамма «M854caг/09» отсутствовал фрагмент VR2 белка *PorA*. С помощью комбинаций праймеров, опубликованных в [4], был определен фрагмент нуклеотидной последовательности гена *porA* длиной 774 п.о. Последовательность включает консервативные трансмембранные фрагменты, фланкирующие последовательность, соответствующую фрагменту VR2; полученная нуклеотидная последовательность отправлена в базу данных GenBank, ей присвоен идентификационный номер HM037346.

Для двух негруппируемых штаммов «M622caг/08» и «M847caг/08» не удалось получить продукт амплификации фрагмента гена *fetA*. Использование альтернативного протокола амплификации с

праймерами «S1»/«S8», рекомендованного авторами методики антигенной характеристики белка FetA [13], также не позволило амплифицировать фрагмент гена, необходимый для анализа.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для разных серогрупп *N.meningitidis* характерны свои особенности распределения сиквенс-типов и вариантов антигенных профилей. Эпидемическое значение менингококков не одинаково и во многом определяется принадлежностью к серогруппе, поэтому антигенные и генетические свойства менингококков имеет смысл рассматривать отдельно в контексте особенностей, связанных с конкретной серогруппой.

Штаммы менингококков серогруппы А были выделены в пяти очагах МИ, возникших в общежитиях рабочих-строителей. Выделенные штаммы принадлежали к двум сиквенс-типам: ST-75 и ST-3349. Штаммы с ST-75 и ST-3349 впервые были выделены на территории Москвы в 1983 и 2002 гг. соответственно; за рубежом данные сиквенс-типы не обнаружены. ST-75 и ST-3349 отличаются аллелем только одного фрагмента — *agoE*. На основании классификации, представленной в базе данных <http://pubmlst.org/neisseria/>, сиквенс-типы ST-75 и ST-3349 входят в клональный комплекс «ST-1 complex/subgroup I/II», согласно более подробной классификации эти сиквенс-типы входят в генетическую субгруппу X [2, 6]. Выделение штаммов, принадлежащих к генетической субгруппе X, от больших ГФМИ характерно для межэпидемического периода. У всех штаммов менингококков серогруппы А выявлен антигенный профиль «P1.5-2,10; F3-5», типичный для штаммов генетической субгруппы X [3]. Выявление у здоровых носителей штаммов генетической субгруппы X свидетельствует о том, что, скорее всего, инфицирование приезжих рабочих-строителей произошло на территории Москвы. Результаты типирования не позволяют делать вывод об импорте на наблюдаемую территорию эпидемически значимых штаммов менингококков серогруппы А. Пример применения современных методов типирования

для эпидемиологического расследования случая заболевания ГФМИ, возникшего в общежитии рабочих-строителей, приведен в [5].

Штаммы менингококков серогрупп В и С отличаются большим генетическим и антигенным разнообразием. Из восьми охарактеризованных штаммов пять имеют сиквенс-типы, не выявленные ранее, для большинства штаммов удается определить принадлежность к описанным в предыдущих исследованиях клональным комплексам; подобная ситуация наблюдалась и при исследовании менингококков серогрупп В и С, выделенных от больных ГФМИ. Все типированные штаммы серогруппы С и один штамм серогруппы В входят в клональный комплекс «ST-41/44 complex/Lineage 3», характерный для штаммов серогруппы С, циркулирующих на территории Москвы. Выявленные субтипы менингококков серогруппы С совпадают с субтипами, найденными у 6 штаммов менингококков той же серогруппы, вызывавших случаи ГФМИ в Москве, начиная с 1998 г. [4].

Штаммы серогруппы В, входящие в клональные комплексы «ST-174 complex» и «ST-213 complex», впервые выявлены на территории Москвы в данном исследовании. Клональный комплекс «ST-174 complex» объединяет 146 штаммов (81 сиквенс-тип), клональный комплекс «ST-213 complex» объединяет 266 штаммов (206 сиквенс-типов). Примерно половина штаммов, входящих в каждый из этих клональных комплексов, выделена от носителей; штаммы выделены преимущественно на территории Европы и не представляют повышенной эпидемической опасности. У менингококков серогруппы В два субтипа: P1.5-1,10-1 и P1.22,14 были найдены ранее у штаммов, выделенных от больных ГФМИ, остальные субтипы на наблюдаемой территории выявлены впервые. Антигенный профиль типированных штаммов отличается от антигенного профиля менингококков серогруппы В, выделенных от больных ГФМИ [3, 4]. У исследованных штаммов все аллели фрагмента VR белка FetA входят в семейство «5», в то время как у штаммов, выделенных от больных ГФМИ,

только 1 штамм из 17 (6%) имеет аллель, принадлежащий к этому семейству.

Исследованные негруппируемые штаммы менингококков отличаются высоким уровнем генетического и антигенного разнообразия: только для 6 из 16 штаммов (37,5%) удалось определить сиквенс-тип, обнаруженный ранее, все эти штаммы входят в клональный комплекс «ST-53 complex». Остальные негруппируемые штаммы имеют сиквенс-типы, выявленные впервые; для 4 из них не удалось определить принадлежность к клональному комплексу. У 2 негруппируемых штаммов не удалось определить сиквенс-тип, предположительно, из-за делеции фрагмента гена, входящего в аллельный профиль. Клональный комплекс «ST-53 complex» объединяет 301 штамм (94 сиквенс-типа). Из штаммов, входящих в этот клональный комплекс, 285 (95%) были выделены от носителей, 230 (76%) штаммов были негруппируемыми (для 49 штаммов серогруппа не указана). Штаммы, входящие в клональный комплекс «ST-53 complex», за очень редким исключением, не вызывают ГФМИ. Индекс разнообразия по Симпсону, рассчитанный согласно [10] на основании разнообразия сиквенс-типов, равнялся 0,92, а при учете аллелей VR1 (PorA), VR2 (PorA) и VR (FetA) достигает 1 (то есть все штаммы отличаются друг от друга). Для сравнения, индекс разнообразия для менингококков серогруппы А равняется 0,51.

Распределение субтипов у негруппируемых штаммов свидетельствует о высоком уровне рекомбинационных процессов в генах, кодирующих белки наружной мембраны: не удастся выявить преобладающий субтип, один штамм имеет делецию фрагмента VR2. Делеция нуклеотидной последовательности, соответствующей фрагменту VR2, при сохранении последовательности, соответствующей VR1, была описана ранее у 5 штаммов менингококков, опубликованных в базе данных <http://pubmlst.org/neisseria/>, а также в [7, 12].

Большая часть выявленных аллелей фрагмента VR белка FetA входит в семейство «1» (9 или 56%), наиболее часто вы-

являлся аллель F1-2 — найден у 5 (31%) штаммов, все они входят в клональный комплекс «ST-53 complex». Отсутствие у двух исследованных штаммов продукта амплификации фрагмента гена *fetA* при использовании рекомендованной методики типирования, по-видимому, связано с делецией гена *feta*. Различные варианты делеционных полиморфизмов, не позволяющие типировать штаммы менингококков, были подробно описаны ранее в [8].

Отсутствие продуктов амплификации генных фрагментов *abcZ* и *agoE* при постановке ПЦР с различными комбинациями праймеров свидетельствует о полной или частичной делеции этих генов. Делеция генов, кодирующих цитоплазматические ферменты, является следствием случайных рекомбинационных изменений, происходящих в бактериальной популяции. Штаммы с потерей соответствующих цитоплазматических ферментов, скорее всего, не имеют эволюционных преимуществ и обладают пониженными вирулентными свойствами. Необходимо отметить, что возможности существующих рекомендованных молекулярно-биологических методик типирования *N.meningitidis* [9, 11] могут быть ограничены при характеристике носительских штаммов из-за интенсивных рекомбинационных процессов внутри и между видами микроорганизмов, колонизирующих верхние дыхательные пути.

В заключение отметим, что соотношение между популяцией менингококков, циркулирующих среди населения Москвы, и субпопуляцией, способной вызывать ГФМИ, различно для менингококков разных серогрупп. Носительские штаммы менингококков серогруппы А — это те, и только те штаммы, которые вызывают ГФМИ. Подобный вывод, хотя и с меньшей степенью определенности из-за небольшого числа изученных штаммов, можно сделать в отношении менингококков серогруппы С. Напротив, нам не удалось обнаружить полных аналогов носительских штаммов менингококков серогруппы В среди штаммов, выделенных от больных ГФМИ. Можно предпо-

ложить, что эти носительские штаммы обладают пониженной, хотя и не нулевой вирулентностью. Наконец, представители весьма гетерогенной субпопуляции негруппируемых штаммов, выделенных от носителей, генетически и антигенно весьма далеки от штаммов, вызывающих ГФМИ. Вероятно, вклад негруппируемых штаммов в эпидемический процесс ограничивается тем, что они служат резервуаром, из которого патогенные и потенциально патогенные штаммы могут в результате рекомбинаций заимствовать новые варианты генов, в том числе генов белков наружной мембраны, и тем самым приобретать эволюционное преимущество [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Менингококковое носительство: загадки и разгадки. Эпидемиол. инфекц. бол. 2010, 1: 30-34.
2. Миронов К.О., Платонов А.Е., Королева И.С. и др. Генетические субгруппы бактерий *Neisseria meningitidis* серогруппы А, выделенных от больных генерализованными формами менингококковой инфекции на территории Москвы в 1969-2006 гг. Журн. микробиол. 2008, 1: 7-12.
3. Миронов К.О., Платонов А.Е., Королева И.С. и др. Мониторинг бактерий вида *Neisseria meningitidis* на основании последовательностей варибельных фрагментов поверхностных белков *FetA* и *PorA*. Там же. 2009, 3: 23-27.
4. Миронов К.О., Платонов А.Е., Шипулин Г.А. и др. Генетическое субтипирование *Neisseria meningitidis*. Эпидемиол. инфекц. бол. 2005, 3: 23-28.
5. Тагаченкова Т.А., Королева И.С., Миронов К.О. и др. Менингококковое носительство в очагах менингококковой инфекции. Там же. 2009, 4: 6-10.
6. Achtman M., van der Ende A., Zhu P. et al. Molecular epidemiology of serogroup A meningitis in Moscow, 1969 to 1997. *Emerg. Infect. Dis.* 2001, 7 (3): 420-427.
7. Bart A., Dankert J., van der Ende A. Antigenic variation of the class I outer membrane protein in hyperendemic *Neisseria meningitidis* strains in the Netherlands. *Infect. Immun.* 1999, 67 (8): 3842-3846.
8. Claus H., Elias J., Meinhardt C. et al. Deletion of the meningococcal *fetA* gene used for antigen sequence typing of invasive and commensal isolates from Germany: frequencies and mechanisms. *J. Clin. Microbiol.* 2007, 45 (9): 2960-2964.

9. Fox A.J., Taha M.K., Vogel U. Standardized nonculture techniques recommended for European reference laboratories. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007, 31 (1): 84-88.
10. 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 (11): 2465-2466.
11. Jolley K.A., Brehony C., Maiden M.C. Molecular typing of meningococci: recommendations for target choice and nomenclature. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007, 31 (1): 89-96.
12. Sacchi C.T., Lemos A.P., Brandt M.E. et al. Proposed standardization of *Neisseria meningitidis* PorA variable-region typing nomenclature. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998, 5 (6): 845-855.
13. Thompson E.A., Feavers I.M., Maiden M.C. Antigenic diversity of meningococcal enterobactin receptor FetA, a vaccine component. *Microbiology.* 2003, 149 (7): 1849-1858.

Поступила 13.09.10

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

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2011

*А.Е.Платонов¹, Л.С.Карань¹,
Т.А.Шопенская¹, М.В.Федорова¹,
Н.М.Колясникова^{1,2}, Н.М.Русакова³,
Л.В.Шишкина³, Т.Е.Аршба⁴,
В.И.Журавлев^{1,5}, М.В.Говорухина⁶,
А.А.Валентсева⁷, Г.А.Шипулин¹*

*A.E. Platonov¹, L.S. Karan¹,
T.A. Shopenskaya¹, M.V. Fedorova¹,
N.M. Kolyasnikova^{1,2}, N.M. Rusakova³,
L.V. Shishkina³, T.E. Arshba⁴,
V.I. Zhuravlev^{1,5}, M.V. Govorukhina⁶,
A.A. Valentseva⁷, G.A. Shipulin¹*

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ЮГЕ РОССИИ, КАК МЕТОД ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО РАССЛЕДОВАНИЯ: ПРИНЦИПЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

GENOTYPING OF WEST NILE FEVER VIRUS STRAINS CIRCULATING IN SOUTHERN RUSSIA AS AN EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION METHOD: PRINCIPLES AND RESULTS

¹Центральный НИИ эпидемиологии, Москва; ²Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова, Московская обл.; ³Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области; ⁴Областная инфекционная клиническая больница, Астрахань; ⁵Астраханская противочумная станция; ⁶Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области; ⁷Городская больница № 1, Ростов-на-Дону

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow; ²Chumakov Research Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalites, Moscow region; ³Center of Hygiene and Epidemiology in Volgograd region; ⁴Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Astrakhan; ⁵Astrakhan Station for Plague Control; ⁶Center of Hygiene and Epidemiology in Rostov region; ⁷City Hospital No. 1, Rostov-on-Don, Russia

Цель. Характеристика штаммов вируса лихорадки Западного Нила (ВЗН), циркулировавших на юге России в 1999 — 2010 гг. **Материалы и методы.** Амплификация РНК ВЗН непосредственно из клинического материала, комаров и тканей птиц с помощью ПЦР; прямое секвенирование нуклеотидных последовательностей и их сравнительный анализ. **Результаты.** Во время вспышек лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в 1999 г. и в 2000 — 2003 гг. в Волгоградской и Астраханской областях циркулировали родственные, но различающиеся геноварианты ВЗН субгенотипа 1а — волгоградский и астраханский. В 2005 г. волгоградский геновариант ВЗН был занесен и на территорию Астраханской области, вызвав наряду с астраханским новым подъем заболеваемости. В 2004 г. в крови 2 больных ЛЗН из Ростовской области была найдена РНК ВЗН генотипа 2; это был первый

Aim. Characteristic of West Nile fever (WNF) virus strains circulating in southern Russia. **Materials and methods.** WNF RNA was amplified directly from clinical samples, mosquitoes and bird tissues by PCR, nucleotides were sequenced directly and analyzed comparatively. **Results.** Related but different genovariants of WNF lineage 1a — «Volgograd» and «Astrakhan» — circulated during WNF outbreaks of 1999 and 2000-2003 in Volgograd and Astrakhan regions. In 2005 «Volgograd» WNF variant emerged in Astrakhan region and along with «Astrakhan» variant caused a new morbidity increase. In 2004 in sera of 2 WNF patients from Rostov region WNF lineage 2 RNA was detected, this was the first WNF clinical case caused by WNF lineage 2 outside of Africa. WNF outbreak in Volgograd region in 2007 was caused by this unique WNF lineage that may preliminary be called russian. Finally, during a major WNF outbreak in 2010 in Volgograd and Rostov regions