

УДК 579.862.1

Смирнова А.О.

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕГО СЕРОТИПОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Смирнова Анастасия Олеговна*, студент кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева, Россия, Москва

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20

*Email: liliumanstist@gmail.com

Были выращены на селективной среде актуальные для нашей местности серотипы Streptococcus pneumoniae. Проведены исследования и дана качественная характеристика его серотипических признаков и чувствительность к антибиотикам. Показаны высокая резистентность серотипов 19F, 9N и 3 к ряду антибиотиков. Подтверждена перекрестная агглютинация и различие внешнего вида образующихся агрегатов у ряда штаммов, находящихся в одной серогруппе.

Ключевые слова: пневмококк; Streptococcus pneumoniae; капсульный полисахарид; серотипы; перекрестная агглютинация; антибиотики.

IDENTIFICATION METHODS OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE AND DESCRIPTION ITS SEROTYPE BELONGING

Smirnova A.O.,

D.Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

The most actual for the local area serotypes of Streptococcus pneumoniae were cultivated on selective medium. The research was carried out and the qualitative characteristics of its serospecific features and antibiotics sensibility were given. The high resistance of serotypes 19F, 9N and 3 to several antibiotics was shown. Cross agglutination and difference in the look of running aggregates of the several strains was proven.

Keywords: pneumococcus; Streptococcus pneumoniae; capsular polysaccharide; serotypes; cross agglutination; antibiotics.

В последние годы во многих странах наблюдается рост числа случаев пневмококковой инфекции, которая является одной из основных причин заболеваемости и смертности. Показатель заболеваемости на 2016 год составлял в среднем по всем регионам России 44.25 на 100 тыс. человек [1]. Разнообразие клинических форм пневмококковых инфекций и высокая частота встречаемости в дошкольных учреждениях объясняется различными восприимчивостью к развитию генерализованных форм и способностью разных штаммов возбудителя колонизировать слизистые и инвазировать во внутреннюю среду организма. По данным исследователей 30 – 50% от всех случаев пневмонии ее причиной является *Streptococcus pneumoniae*, в связи с чем разработка вакцинных препаратов, защищающих от пневмококковой инфекции, заслуживает особого внимания [2].

S.pneumoniae – условно патогенный микроорганизм, населяющий слизистые оболочки носоглотки, попадая в них аэрогенным путем. Он характеризуется наличием мощной капсулы, полисахарид которой является главным патогенным фактором.

Важной проблемой лечения пневмонии является распространенность низкой чувствительности пневмококков к ряду наиболее широко применяемых антибиотиков [2]. Капсульный полисахарид (КПС) является главным фактором вирулентности и

патогенности микроорганизма. К настоящему моменту хорошо изучена структура КПС большинства серотипов пневмококка и предложены структурные модели. Для его молекул характерны β -1,3 связи между целлобиуроновыми единицами. В связи с различием строения капсулы, *S.pneumoniae* подразделяют на 94 серотипа. Поскольку по данным исследователей 23 серотипа пневмококка ассоциированы с более чем 80% инвазивных пневмококковых заболеваний, возможна разработка профилактических препаратов против пневмококковой инфекции. Наиболее широко используется датская система классификации. Так, полисахариды 6A и 6B серотипов различаются лишь по типу связи между рибитолом и рамнозой, поэтому их эпитопы мало различаются [4]. Такие серотипы объединяются в одну серогруппу, которая обозначается арабскими цифрами, а сам серотип – заглавной латинской буквой. Если серотип один, то он обозначается только числом (например, 3, 14).

Целью исследования являлась характеристика изучаемых штаммов по серотиповой принадлежности, где в качестве антигена рассматривали КПС, а также проверка их чувствительности к широко используемым антибиотикам.

В качестве объектов исследования были выбраны штаммы следующих серотипов *S.pneumoniae*:

- 19F: штаммы № 532 и 888;
- 9N: № 420 и 795;
- 3: № 3 и 196.

Все штаммы выделены в естественных условиях от больных детей в лаборатории микробиологии НЦЗД Минздрав РФ.

Выращивание пневмококка проводилось на среде с высоким содержанием аминного азота [3]. В

качестве источника углерода использовалась глюкоза. Посев проводился на агаре с добавлением 5% лошадиной крови. Выращивание проводилось при температуре 37°C в атмосфере с повышенным содержанием углекислого газа (5%) в течение 24 часов.

Чувствительность к антибиотикам исследовали с применением дисков с антибиотиками различных классов (ЗАО "НИЦФ", Санкт-Петербург, РФ). Результаты представлены в табл.1:

Таблица 1. Чувствительность к антибиотикам штаммов *S.pneumoniae*

Название антибиотика	Штаммы <i>S.pneumoniae</i>											
	Pn 19F 532		Pn 19F 888		Pn 9N 420		Pn 9N 795		Pn 3 3		Pn 3 196	
	диаметр, мм	чув.*	диаметр, мм	чув.	диаметр, мм	чув.	диаметр, мм	чув.	диаметр, мм	чув.	диаметр, мм	чув.
Доксициклин	36	3	22	2	17	2	30	3	21	3	12	2
Эритромицин	30	3	7	1	34	3	31	3	36	3	31	3
Офлоксацин	19	2	24	2	35	3	13	2	36	3	29	3
Гентамицин	7	1	6	1	10.5	1	8	1	10	1	7.5	1
Цефатаксим	X		7	1	17	2	23	2	17	2	8	1

* где от 12 и более – чувствителен; от 0 до 12 – нечувствителен; X – не определяется [5]

Полученные результаты показывают, что чувствительность штаммов пневмококка к антибиотикам различна. Все исследованные штаммы не обладают чувствительностью к действию гентамицина. Эритромицин практически не действует на Pn 19F 888 несмотря на высокую эффективность против других штаммов. Также вышеуказанный штамм является наиболее устойчивым к антибиотикам из всех исследуемых штаммов. Исследованные штаммы проявляют чувствительность к действию офлоксацина и доксициклина. Полученные данные свидетельствуют о важности подбора антибактериальных препаратов

при назначении лечения. Другим следствием является то, что *Streptococcus pneumoniae* обладает множественную резистентность к антибиотикам различных классов, что было подтверждено в более ранних исследованиях.

Для изучения серотиповой принадлежности использовали набор серотиповых сывороток производства States serum Institut, Denmark. Результаты представлены в табл.2. Схожие результаты при перекрестной реакции с антителами объясняют, почему штаммы делят на серогруппы, обозначаемые числами.

Таблица 2. Результаты исследования серотиповой принадлежности исследуемых штаммов

Используемая сыворотка	Серотипы и штаммы S.pneumoniae					
	Pn 19F 888	Pn 19F 532	Pn 9N 795	Pn 9N 420	Pn 3 3	Pn 3 196
19F	XXX мелкие*	XXX крупные				
19A	XXX мелкие	XXX средние				
9N			XX мелкие	XXX очень мелкие		
9V			XX мелкие	XX мелкие		
3 (шт. 196)					XXXX крупные	XXXX крупные

Примечание: * x – агглютинации нет (суспензия осталась мутной); xx – агглютинация слабая (образование хлопьев), xxx – существенная агглютинация (множественные хлопья); xxxx – множественные хлопья и абсолютно жидкость прозрачная.

Таким образом, проведенное исследование показало необходимость исследования чувствительности к антибиотикам для назначения адекватного лечения пневмококковой инфекции. Определение серотипа исследуемых штаммов пневмококка необходимо при исследовании географии и динамики распространения штаммов и составления серотипового пейзажа местности. Это необходимо при решении вопроса о включении КПС во вновь разрабатываемую вакцину.

Список литературы

1. Главный государственный санитарный врач по городу Москве Постановление от 29 июля 2016 года № 8 «О проведении профилактических прививок отдельным группам граждан против пневмококковой инфекции в городе Москве по эпидемическим показаниям» // 2016.

2. Чучалин А.Г. [и др.]. Практические рекомендации Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике 2010. № 3 (12).

3. Железова Л., Кветная А.С. Современные подходы к повышению элективных свойств питательных сред для культивирования пневмококков. Санкт-Петербург, 2013.

4. Carbonhydrate Structure Database [Электронный ресурс]. URL: <http://csdb.glycoscience.ru/bacterial/> (дата обращения: 14.05.2017).

5. Кречикова О.И. [и др.]. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам Streptococcus pneumoniae // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000. № 1 (2).