

## **Название проекта**

«Метод прогнозирования тяжести течения пневмококковых инфекций с помощью серотипирования методом Multiplex ПЦР».

## **Научно-техническое описание, актуальность**

В настоящее время серотипирование пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) с использованием специфических серотиповых сывороток является основным методом эпидемиологического контроля пневмококковой инфекции. Проведение серотипирования особенно важно для оценки эффективности применяемой в России и других странах 23-валентной полисахаридной вакцины Пневмо-23, защищающей только от тех серотипов *S. pneumoniae*, которые входят в ее состав. Но этот метод является достаточно затратным как финансово, так и по времени, и отдельную сложность представляет приобретение серотиповых сывороток, которые в России не производятся. Так же существует возможность перекрестных реакций, что приводит к ложноположительным или ложноотрицательным результатам исследований. Принимая во внимание эти факторы, предлагается использовать молекулярно-генетический метод – полимеразную цепную реакцию. Метод ПЦР является менее затратным и гораздо более специфичным, чем традиционно используемые методы, но реже используется в практическом здравоохранении из-за отсутствия разработанных генетических маркеров или тест-систем для индикации серотиповой характеристики пневмококков. Для определения серотипов исследуемых штаммов предлагается применять метод Multiplex PCR.

В настоящее время нами проведены исследования с праймерами к серотипам 3, 4, 6, 14, 19A, 19F, 23F, входящим в состав как отечественной 23-валентной, так и зарубежной 11-валентной вакцины. В дальнейшем необходимо расширить спектр применяемых праймеров, для того чтобы охватить все серотипы, входящие в состав вакцины Пневмо-23 и/или наиболее часто встречающиеся на изучаемой территории.

На основе нашего метода будет возможно прогнозирование тяжести течения пневмококковых инфекций, с использованием праймеров, специфичных для наиболее актуальных в определенном регионе серотипов.

По сравнению с использованием стандартных серотиповых сывороток, предлагаемый метод является менее затратным в финансовом отношении, проводится достаточно быстро и просто. Одновременно в этих же реакциях представляется возможным определить и наличие главного фактора вирулентности пневмококка – полисахаридной капсулы, что позволяет подтвердить этиологическую значимость выделенного возбудителя.

В серотиповой характеристике штаммов *S. pneumoniae*, вызывающих инвазивные (бактериальный менингит и первичная бактериемия у детей, спонтанный бактериальный перитонит, сепсис с поражением определенных органов и тканей – септический артрит, перикардит, эндокардит, миозит, остеомиелит) и неинвазивные (острый средний отит, синусит, трахеит, бронхит, пневмония) формы инфекций, наблюдаются существенные различия. В Европейских странах самым распространенным является серотипы 14 и 5, серотип 3 чаще выделялся в Испании – стране с повышенным уровнем смертности от пневмококковой инфекции (Ferrandiz et al., 2005). На долю серотипов 3, 4, 6B, 14, 19F, 19A, 23F приходится более 80% всех инвазивных инфекций среди детей в возрасте до 5 лет в США (Doern et al., 1998). В России неосложненные формы чаще вызывали пневмококки сероваров 4, 15, 18, 19, 21, 23, 34, 37 и 42, а осложненные формы - 3, 5, 6, 14 (Козлов, 2005; Таточенко, 2007). Известно, что серотип 3 является наиболее вирулентным. Таким образом, определив серотип *S. pneumoniae*, вызвавшего инфекцию, можно прогнозировать тяжесть течения данного заболевания, что позволяет проводить комплекс профилактических мероприятий для предотвращения последствий заболевания, повышения качества жизни и уровня оказания медицинской помощи. Реализация данного проекта позволит вывести диагностический процесс на молекулярно-генетический уровень, значительно расширить систему диагностики инфекционных заболеваний, повысить эффективность диагностических мероприятий и снизить экономические затраты

(стоимость 1 реакции, проведенной разрабатываемым методом, практически в 3 раза ниже, чем традиционно используемых реакций с использованием серотиповых сывороток).

Разрабатываемая технология предназначена для использования в практическом здравоохранении – клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений, для улучшения качества диагностики и прогнозирования течения пневмококковых инфекций у больных и носителей *S.pneumoniae*. Стоимость 1 реакции Multiplex ПЦР - около 70 рублей.

Защита интеллектуальной собственности: по данному исследованию получено удостоверение на рационализаторское предложение №2735 от 08.04.2009, выданное патентным отделом ГОУ ВПО ВГМУ. При реализации проекта планируется получение патента.

Печатные работы:

1. Скурихина Ю.Е. Генетическая характеристика штаммов *S.pneumoniae*, выделенных у пациентов специализированных стационаров. Тезисы докладов X Тихоокеанской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием (2009 г.) с.233
2. Обеспеченность факторами вирулентности штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от пациентов специализированных стационаров / Ю.Е.Скурихина, Л.А. Скурихина, В.Б.Туркутюков и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии №1 (14), 2009, С.42-45.

Результат, который планируется получить: «Метод прогнозирования тяжести течения пневмококковых инфекций с помощью серотипирования методом Multiplex ПЦР».

Этапы:

1. Разработка праймеров для генов, кодирующих серотипы 1, 2, 5, 6С, 7С, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 10F, 11A, 12F, 13, 15B, 16F, 17F, 18C, 20F, 21F, 22F, 23A, 23B, 31, 33F, 34, 35B, 39.
2. Разработка тест-систем для генотипирования штаммов пневмококков, представляющих клиническую значимость, выделенных от больных и носителей пневмококковых инфекций.
3. Апробация разработанных тест-систем на клиническом материале.
4. Разработка и оформление технической документации по применению тест-систем молекулярно-генетического исследования методом Multiplex ПЦР.

План продвижения проекта и вывода на рынок: издание методических рекомендаций, информационных писем, разработка внедрений в практическое здравоохранение – лечебно-профилактические учреждения. Переход на использование данного метода не представит сложности для лабораторий при наличии разрабатываемых нами готовых тест-систем.

Необходима сертификация метода после реализации данного проекта.

Проект является победителем конкурса УМНИК на межрегиональной научно-практической конференции молодых исследователей «Живые системы».

#### **Информация об исполнителе:**

Скурихина Юлия Евгеньевна, г. Владивосток, ГБОУ ВПО «Тихоокеанский Государственный Медицинский Университет» Минздрава РФ, доцент кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии.

[eesku@mail.ru](mailto:eesku@mail.ru)

