

- Trial Study Group. Sustained efficacy of pulmonary artery pressure to guide adjustment of chronic heart failure therapy: complete follow-up results from the CHAMPION randomised trial. *Lancet*. 2016;387:453-461. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00723-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00723-0)
11. Melenovsky V., Andersen M. J., Andress K., Reddy Y. N., Borlaug B. A. Lung congestion in chronic heart failure: haemodynamic, clinical, and prognostic implications. *Eur. J. Heart Fail.* 2015;17:1161-1171.
 12. Петров В. С. Результаты 5-летнего наблюдения за пациентами с ревматическими пороками сердца. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2015;3:83-87. [Petrov V. S. Result of 5-year observation for patients with rheumatic heart disease. *IP Pavlov Medical Biological Herald*. 2015;(3):83-87. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/pavlovj2015383-87>
 13. Шостак Н. А., Клименко А. А., Новиков И. В. Состояние функции внешнего дыхания у больных ревматическими пороками сердца, осложненными лёгочной гипертензией. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2011;7(1):26-30. [Shostak N. A., Klimenko A. A., Novikov I. V. Respiratory function in patients with rheumatic heart disease complicated with pulmonary hypertension. *Rational Pharmacother. Card.* 2011;7(1):26-30. (In Russ.)].
 14. Parvathy U. T., Rajan R., Faybushevich A. G. Pulmonary function derangements in isolated or predominant mitral stenosis – Preoperative evaluation with clinico-hemodynamic correlation. *Interv. Med. Appl. Sci.* 2014;6(2):75-84. <https://doi.org/10.1556/IMAS.6.2014.2.4>
 15. Mundhra S. H., Mundhara K. S., Thakkar R. M., Ninama K., Parmar H. Pulmonary function test in mitral valve disease. *Internat. Arch. Integr. Med.* 2015;2(8):24-29.

Сведения об авторе

Петров Вадим Сергеевич, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры госпитальной терапии с курсом медико-социальной экспертизы; тел.: 79106425896; e-mail: dr.vspetrov@gmail.com

© Коллектив авторов, 2019
УДК 575.22:616.98:579.852.11(470.6)
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14144>
ISSN – 2073-8137

СПЕКТР canSNP-ГЕНОТИПОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ВНУТРИВИДОВОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО И ФЕНОТИПИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

Е. А. Котенева, О. И. Цыганкова, А. В. Калинин, А. В. Абрамович

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт,
Российская Федерация

THE SPECTRUM OF canSNP-GENOTYPES AS AN INDICATION OF INTRASPECIFIC GENETIC AND PHENOTYPIC VARIETY OF *BACILLUS ANTHRACIS* STRAINS ISOLATED IN NORTH CAUCASUS AND IN ITS ADJACENT TERRITORIES

Koteneva E. A., Tsygankova O. I., Kalinin A. V., Abramovich A. V.

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Russian Federation

Для оценки генетического разнообразия проведен ретроспективный анализ канонических SNP 52 штаммов возбудителя сибирской язвы, выделенных на Северном Кавказе и сопредельных с ним территориях на протяжении 68 лет из различного материала во время вспышек сибирской язвы. Выявлена значительная вариабельность SNP-локусов. Показаны наиболее распространенные и редко встречающиеся SNP-генотипы, их количественное и временное распространение в республиках Северного Кавказа и на сопредельных территориях. Рассматривается связь принадлежности штаммов к редкому SNP-генотипу B.Br001/002 с особенностями фенотипических свойств этих культур, а также роль смешанных по фено- и генотипу популяций штаммов *Bacillus anthracis* в сохранении потенциала патогенности в различных условиях и достоверности их генетического маркирования при эпидемиологическом расследовании вспышек сибирской язвы.

Ключевые слова: штаммы *B. anthracis*, SNP-генотип, фенотипические свойства, гетерогенность популяции штаммов, эпидемиологическое расследование

For the purpose of estimation of the genetic variety, a retrospective analysis of canSNP of 52 anthrax strains, isolated in the North Caucasus and in its adjacent territories over a period of 68 years from various materials during anthrax outbreaks is carried out. A considerable variability of SNP-loci has been shown. The most widespread and scarce SNP-genotypes and their quantitative and temporal distribution in the republics of the North Caucasus and in its adjacent territories have been revealed. A relation between the belonging of strains to the rare SNP-genotype B.Br001/002 which shows peculiarities in phenotypic properties of these cultures, and the role of populations of *Bacillus anthracis* strains of mixed pheno- and genotypes in the maintenance of pathogenicity potential under various conditions and in the reliability of their genetic marking during epidemiological investigation of anthrax outbreaks are being considered.

Keywords: *B. anthracis* strains, SNP-genotype, phenotypic properties, heterogeneity of strain population, epidemiological investigation

Для цитирования: Котенева Е. А., Цыганкова О. И., Калинин А. В., Абрамович А. В. СПЕКТР canSNP-ГЕНОТИПОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ВНУТРИВИДОВОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО И ФЕНОТИПИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(4):580-583. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14144>

For citation: Koteneva E. A., Tsygankova O. I., Kalinin A. V., Abramovich A. V. THE SPECTRUM OF canSNP-GENOTYPES AS AN INDICATION OF INTRASPECIFIC GENETIC AND PHENOTYPIC VARIETY OF *BACILLUS ANTHRACIS* STRAINS ISOLATED IN NORTH CAUCASUS AND IN ITS ADJACENT TERRITORIES. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(4):580-583. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14144> (In Russ.)

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР – полимеразная цепная реакция
canSNP – канонические единичные нуклеотидные полиморфизмы
LNA-зонды – Lock Nuclein Acid, тип флуоресцентно меченых зондов

MLVA – Multiple-Locus VNTR Analysis, многолокусный анализ областей генома с переменным числом тандемных повторов
VNTR – Variable Number of Tandem Repeat, переменное число тандемных повторов

Проблема сибирской язвы остается актуальной для многих стран мира, в том числе для Российской Федерации. Только на территории Северного Кавказа зарегистрировано 1880 стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов [1]. Периодическое проявление эпидемической активности стационарно неблагополучных пунктов и возникновение заболеваний людей или животных вследствие заноса инфекции из других территорий требуют разных подходов в проведении противоэпидемических мероприятий. Существенную помощь в решении этих вопросов может оказать применение методов молекулярно-генетического типирования выделенных во время вспышки штаммов возбудителя сибирской язвы. Для определения степени генетического родства штаммов *B. anthracis* используют два метода с разной дискриминирующей способностью: многолокусный анализ переменных тандемных повторов (MLVA) [2] и анализ канонических единичных нуклеотидных полиморфизмов (canSNP) [3]. Использование канонических SNP позволяет определять принадлежность конкретных штаммов к основным генетическим линиям сибиреязвенного микроба, каждая из которых имеет некоторую приуроченность к определенному географическому региону.

Кроме того, в последнее время появляется все больше данных о связи между принадлежностью штаммов *B. anthracis* к определенным MLVA- и canSNP-генотипам и такими их фенотипическими свойствами, как активность токсинопродукции и типичность условий капсулообразования при наличии соответствующих плазмид, протеолитическая и гемолитическая активности, способность гидролизовать крахмал и гликоген, независимость прорастания спор от наличия в среде триптофана, длина гликопротеиновых филоментов экзоспориума [4, 5, 6].

Цель исследования – определение canSNP-генотипов и выявление их связи с фенотипическими свойствами штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории Северного Кавказа, а также сопредельных территориях юга России и стран ближнего зарубежья.

Материал и методы. Объектом исследования стала репрезентативная выборка из 52 штаммов *B. anthracis* из коллекции Ставропольского противочумного института, выделенных в период 1945–2013 гг. на территории Северного Кавказа (Ставропольский край, Республика Северная Осетия–Алания, Республика Дагестан, Чеченская, Кабардино-Балкарская, Карачаево-Черкесская республики), Закавказья (Азербайджан, Грузия), а также в Республике Калмыкия, Узбекистане и Туркменистане. Наибольшее количество штаммов *B. anthracis* было выделено

в период с 1960 по 1999 г. – 44 штамма, до 1960 г. – 2 штамма и после 2000 г. – 6 штаммов. Источником выделения культур сибиреязвенного микроба служили различные виды материала, поступавшего на исследование в период вспышек: материал от больных людей – 22; материал от сельскохозяйственных животных и продукты животного происхождения – 12; почва – 12; смывы с объектов внешней среды – 3; от членистоногих (блохи, клещи) – 3.

Для характеристики штаммов по VNTR-локусам использовали 6 хромосомных и 2 плазмидных маркера, в соответствии с описанием авторов [2]. Определение canSNP-генотипов проводили с использованием собственных LNA-зондов и праймеров, описанных М. N. Van Ert с соавт. [3]. Выделение образцов ДНК для проведения ПЦР осуществляли в соответствии с МУ 1.3.2569.-09 [7]. Для выделения ДНК и проведения амплификации специфических фрагментов использовали реактивы производства ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва). Детекцию canSNP проводили с использованием меток FAM и R6G в мультиплексном формате в режиме «real-time» на многоканальных амплификаторах CFX 96 (Bio-Rad) и RotorGen 6000 (Qiagen). Для подтверждения результатов было проведено выборочное секвенирование отдельных canSNP-локусов методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABIPrism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Результаты и обсуждение. В процессе выполнения работы было идентифицировано 3 canSNP-генотипа, что свидетельствует о значительном генетическом разнообразии штаммов *B. anthracis*, циркулирующих на территории Северного Кавказа. Переменными оказались 5 канонических полиморфизмов. Изученные штаммы принадлежали к обеим основным линиям молекулярно-генетического разнообразия – А и В.

Количественное распределение штаммов *B. anthracis* с различными canSNP-генотипами по республикам Северного Кавказа и сопредельным территориям и сроки их выделения представлены в таблице.

Штаммы *B. anthracis* с генотипом А.Br008/009 были самыми многочисленными в данной выборке (65,4 %) и выделялись повсеместно с 1966 по 2013 год. На территории Северного Кавказа они составляли от 25,0 до 88,9 %. Среди штаммов, выделенных на сопредельных территориях, таких было 25,5–33,3 %. В регионах, представленных 1–3 штаммами (Карачаево-Черкесская Республика, Республика Калмыкия, Туркменистан, Узбекистан), все штаммы принадлежали к данному генотипу.

В изученной выборке штаммов с территории Северного Кавказа к canSNP-генотипу А.BrAust94 относились 14 (26,9 %). В Кабардино-Балкарии они были выделены в 1998–1999 гг. и составляли 75 %. На остальных

административных территориях Северного Кавказа штаммы этого генотипа составляли 11,1–28,6 % от общего количества изученных штаммов *B. anthracis* и были выделены в период с 1968 по 1999 год. Совсем не встречались штаммы с этим генотипом среди штаммов из Дагестана. На сопредельных с Северным Кавказом территориях штаммы с *can*SNP-генотипом A.BrAust94 выявлены в Грузии (50,0 %) и Азербайджане (66,7 %); эти штаммы были выделены в 1962–1990 гг. Согласно литературным данным [3], SNP-генотип A.BrAust94 преимущественно доминирует в Западной и Центральной Азии. Отсутствие этого генотипа в нашей выборке среди штаммов из Туркмении, Узбекистана, Республики Калмыкия и Карачаево-Черкесской Республики, возможно, обусловлено малым количеством культур из этих регионов (1–3 штамма).

Таблица

Территориальное распределение и сроки выделения штаммов *B. anthracis* с различными *can*SNP-генотипами

Территории	Общее количество штаммов	SNP-генотипы	Количество штаммов по SNP-генотипам	Годы выделения
Северный Кавказ				
Ставропольский край	9	A.Br008/009	8 (88,9 %)	1969–2013
		A.BrAust94	1 (11,1 %)	1998
Республика Дагестан	7	A.Br008/009	4 (57,1 %)	1966–1979
		V.Br001/002	3 (42,9 %)	1957–1963
Кабардино-Балкарская Республика	4	A.Br008/009	1 (25,0 %)	1979
		A.BrAust94	3 (75,0 %)	1998–1999
Республика Северная Осетия-Алания	7	A.Br008/009	5 (71,4 %)	1968–2007
		A.BrAust94	2 (28,6 %)	1969–1987
Чеченская Республика	7	A.Br008/009	5 (71,4 %)	1967–1988
		A.BrAust94	2 (28,6 %)	1968
Карачаево-Черкесская Республика	1	A.Br008/009	1 (100 %)	1992
Сопредельные территории				
Республика Калмыкия	3	A.Br008/009	3 (100 %)	1981–1998
Республика Азербайджан	6	A.Br008/009	2 (33,3 %)	1979–1982
		A.BrAust94	4 (66,7 %)	1962–1990
Грузия	4	A.Br008/009	1 (25,0 %)	1981
		A.BrAust94	2 (50,0 %)	1981–1984
		V.Br001/002	1 (25,0 %)	1945
Туркменистан	2	A.Br008/009	2 (100 %)	1979
Узбекистан	2	A.Br008/009	2 (100 %)	1969
Всего	52			

Штаммы SNP-генотипов A.Br008/009 и A.BrAust94 обладали разными MLVA-8 генотипами, относящимися в основном к генетической ветви A3a и частично к A1. Данные группы составили вирулентные штаммы *B. anthracis*, типичные по фенотипическим признакам.

Наиболее редкими были штаммы *B. anthracis* из генетической группы V.Br001/002 – из четырех штаммов

этого генотипа три были выделены в различных районах Дагестана (2 из материала от больных людей и 1 из клеща) в период с 1957 по 1963 год. Еще один штамм этой группы был выделен в Грузии в 1945 году на Табохмельском биокombинате из трупа овцы и длительно использовался в качестве производственного штамма *B. anthracis*. Грузия оказалась единственной территорией, на которой выявлены все три из обнаруженных в данной выборке штамма SNP-генотипа, при этом штамм *B. anthracis* 228 был выделен первым (1945 г.) из данной выборки с генотипом V.Br001/002. Все штаммы имели одинаковый MLVA-8 генотип. Следует отметить, что все указанные штаммы были атипичными по токсинообразованию, протеолитической и гемолитической активности, потребности в триптофане [4]. Представляется интересным углубленное изучение фенотипических свойств штаммов *B. anthracis*, выделенных на отдаленных территориях (Бурятия, Омская область, Ямало-Ненецкий автономный округ), имеющих такой же *can*SNP-генотип, но отличающихся по MLVA-8 генотипам. Филогенетически близкие к ним штаммы сибирезвенного микроба, относящиеся к субгруппам V.Br.CNEVA и V.Br.Kruger [3], отличались от «кавказских» по отдельным локусам.

При оценке возможности заноса возбудителя сибирской язвы с сопредельных или отдаленных территорий при эпидемиологическом расследовании вспышек этого заболевания необходимо учитывать вероятность смены доминирующих генотипов. Так, несмотря на относительную редкость штаммов генетической группы V, в последние десять лет в Российской Федерации отмечены три крупные вспышки сибирской язвы среди людей и сельскохозяйственных животных, вызванные штаммами этой генетической группы (Бурятия – 2008 г., Омск – 2010 г., Ямало-Ненецкий автономный округ – 2016 г.) [8]. В то же время на территории Северного Кавказа среди штаммов *B. anthracis*, выделенных позднее 1963 года, указанный генотип не обнаружен. Остается невыясненным механизм возникновения смешанных популяций некоторых штаммов *B. anthracis*, выделенных из патологического материала (12/16, 14/41) вариантов, относящихся к генетической ветви A и обладающих типичными для возбудителя сибирской язвы фенотипическими свойствами, и напротив – селекция из популяции типичного штамма *B. anthracis*1(CO), выделенного в 1968 году с генотипом A.Br008/009 вариантов, относящихся к генотипу V.Br001/002 и обладающих комплексом атипичных свойств.

Заключение. Более масштабное ретроспективное изучение *can*SNP-генотипов штаммов *B. anthracis*, выделенных в определенных регионах, а также выяснение сроков и условий формирования неоднородной популяции штаммов возбудителя сибирской язвы по таким важным для их эпидемиологического маркирования свойствам, как принадлежность к основным филогенетическим ветвям, поможет объективнее оценить надежность использования этих характеристик при оперативном и ретроспективном эпидемиологическом расследовании заболеваний людей и животных сибирской язвой.

Кроме того, существование штаммов *B. anthracis* с различными комплексами фенотипических свойств и наличие (или появление) в популяции некоторых штаммов отдельных клонов с различными генотипическими характеристиками и фенотипическими свойствами требует уточнения их роли в различных условиях существования в организме животных при сохранении спор, а возможно, и при размножении в некоторых типах почвы при определенных климатических условиях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Куличенко А. Н., Буравцева Н. П., Рязанова А. Г., Еременко Е. И. Сибирская язва на Северном Кавказе. Майкоп: Качество, 2016. [Kulichenko A. N., Buravtseva N. P., Ryazanova A. G., Eremanko E. I. Anthrax in the North Caucasus. Maykop: Kachestvo, 2016. (In Russ)].
2. Keim P., Price L. B., Klevytska A. M., Smith K. L., Schupp J. M. [et al.]. Multiple-Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2000;182:2928-2936.
3. Van Ert M. N., Easterday W. R., Huynh L. Y. Global Genetic Population Structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS ONE*. 2007;2(5):1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000461>
4. Цыганкова О. И., Еременко Е. И., Цыганкова Е. А., Буравцева Н. П., Рязанова А. Г. Фенотипические и генетические особенности культурально-морфологических вариантов *Bacillus anthracis*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2008;4:611. [Tsygankova O. I., Eremanko E. I., Tsygankova E. A., Buravtseva N. P., Ryazanova A. G. Phenotypic and genetic peculiarities of cultural and morphological variants of *Bacillus anthracis*. *Jurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunologii*. – *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2008;4:611. (In Russ.)].
5. Sylvestre P., Couture-Tosi E. and M. Mock. Polymorphism in the collagen-like region of the *Bacillus anthracis* BclA protein leads to variation in exosporium filament length. *J. Bacteriol.* 2003;185:1555-1563. <https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1555-1563.2003>
6. Sylvestre P., Moya M., Haustant M., Vaissaire J., Mock M. Carbohydrate Metabolism Differences between Subgroup A1 and B2 Strains of *Bacillus anthracis* as Assessed by Comparative Genomics and Functional Genetics. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75(17):5727-5728. <https://doi.org/10.1128/AEM.02715-08>
7. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико», 2013. [Laboratornaya diagnostika opasnykh infektsionnykh boleznei. Prakticheskoye rukovodstvo. M.: ZAO «Shiko», 2013. (In Russ.)].
8. Куличенко А. Н., Еременко Е. И., Рязанова А. Г., Аксенова Л. Ю., Ковалев Д. А. [и др.]. Биологические свойства и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017;(1):94-99. [Kulichenko A. N., Eremanko E. I., Ryazanova A. G., Aksenova L. Y., Kovalev D. A. [et al.]. Biological properties and molecular-genetic characteristics of *Bacillus anthracis* strains, isolated during the outbreak of anthrax in the Yamalo-Nenets autonomous district in 2016. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. – *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017;(1):94-99. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-1-94-99>

Сведения об авторах:

Котенева Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией постгеномных технологий; тел.: (8652)203264, 89054125473; e-mail: postgenom_stv@mail.ru

Цыганкова Ольга Ивановна, доктор медицинских наук, врач-бактериолог лаборатории бруцеллеза; тел.: (8652)203264, 89054697529; e-mail: postgenom_stv@mail.ru

Калинин Александр Васильевич, биолог лаборатории постгеномных технологий; тел.: (8652)203264, 89187703326; e-mail: jugask@mail.ru

Абрамович Алена Владимировна, младший научный сотрудник; тел.: (8652)203264, 89887072860; e-mail: luna.xentaron@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.831.9-002-06:[616.98:578.828.6]-036.1

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14145>

ISSN – 2073-8137

КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ МЕНИНГИТОВ, ВЫЗВАННЫХ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* У ВИЧ-ПОЗИТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ

В. В. Николенко, А. В. Николенко, О. Н. Сумливая, Н. Н. Воробьева, Е. В. Белкина

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера,
Российская Федерация

CLINICAL COURSE OF MENINGITIS CAUSED BY *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* IN HIV-POSITIVE PATIENTS

Nikolenko V. V., Nikolenko A. V., Sumliyaya O. N., Vorobyeva N. N., Belkina E. V.

Perm State Medical University named after E. A. Wagner, Russian Federation

Цель исследования: изучение клинического течения менингитов, вызванных *S. pneumoniae* у пациентов с ВИЧ-инфекцией. В 2011–2016 гг. проведено клиничко-лабораторное обследование 172 ВИЧ-инфицированных больных с бактериальными гнойными менингитами, сформированы группы наблюдения (ВИЧ-позитивные пациенты) и сравнения (ВИЧ-негативные пациенты) с пневмококковыми менингитами. Установлено, что клинический вариант инфекционного процесса у ВИЧ-позитивных пациентов, пораженных *S. pneumoniae*, проявляется значимой тяжестью без выраженного «падения» CD₄⁺-Т-лимфоцитов крови. Частота возникновения неврологических нарушений и летальности у ВИЧ-позитивных больных выше, чем в общей популяции населения.

Ключевые слова: ВИЧ-позитивные пациенты; менингиты, вызванные *Streptococcus pneumoniae*