

## КЛИНИКАЛЬК МЕДИЦИНА

алғанда республика бойынша травма алу көрсеткіші 3,4%-ға өскен. Сүйек-бұлшықет жүйесі аурулары аурулар құрылымында 11,2% құрайды.

### RESUME

**Abdiraev P.**

Osh clinical Hospital, Republic Kyrgyzstan

#### **DYNAMICS OF GROWTH OF THE TRAUMATISM IN OSH AND GROWTH OF DISEASE OF KOSTNO-MUSCULAR SYSTEM IN ORTHOPEDIC BRANCH OF THE CENTER OF TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDY OF THE OSH CITY CLINICAL HOSPITAL**

In work relative density of a traumatism in Osh during the last years is analyzed growth of traumas on 3,4 % tends to decrease in 2009, then to growth in 2010 as a whole on republic. Disease of kostno-muscular system occupies as a whole 11,2 % in disease frame.

---

УДК 579

**Д.Б. Бабенко, А.А. Турмухамбетова**

Карагандинский государственный медицинский университет

#### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ СУБВИДОВОГО ТИПИРОВАНИЯ S.AUREUS ОСНОВАННЫЕ НА СЕКВЕНИРОВАНИИ - MLST И SPA**

##### **Аннотация**

Исследование, проведенное на основе полногеномных данных S.aureus с определение MLST и Spa типов продемонстрировало более высокую дискриминирующую способность Spa типирования (83,5%) в сравнении с MLST (80,4%). Конкордантность между результатами полученные двумя методами составило 36,8% (95% ДИ 34,8-38,8). Предсказательная способность для MLST на основе Spa 46,3%, для Spa используя MLST данные составило 29,3%

**Ключевые слова:** Конкордантность, дискриминирующая способность, Spa типирование, MLST.

##### **АКТУАЛЬНОСТЬ**

Стафилококки, особенно их метициллин-устойчивые штаммы (MRSA), являются одним из основных бактериальных патогенов нозокомиальных инфекций [1]. Наличие мобильных элементов, так называемых хромосомных касет mec (SCCmec), включающих ssg комплекс с mec геном, обеспечивает устойчивость к метициллину [2]. Главным моментом в контроле за распространением штаммов S. aureus с множественной устойчивостью к антимикробным препаратам, является мониторинг, включающий определение путей распространения патогенов не только при возникновении локальных вспышек, но и при диссеминировании определенных «успешных» клонов на глобальном уровне. Такой контроль за инфекцией возможен с помощью эффективных молекулярно-генетических методов.

На текущий момент разработано и успешно применяется большое количество разнообразных способов субвидового типирования, включая такие методы как пульс-гель электрофорез (PFGE) [3], мультилокусное секвенирование типирование (MLST) [4] и Spa типирование [5]. Однако, обладая преимуществами и недостатками они не

## КЛИНИКАЛЬКЪ МЕДИЦИНА

совмещают в себе наряду с высокой дискриминирующей способностью межлабораторную воспроизводимость, легкость в использовании и низкую цену.

Метод MLST основанный на секвенировании 7 генов домашнего хозяйства является полезным в эпидемиологических исследованиях [6]. В свою очередь, Spa типирование, которое основано на секвенировании полиморфного региона X протеина A гена также показало себя высоко эффективным в типировании бактерий *S.aureus* [7]. Высокая воспроизводимость, стабильность и межлабораторная совместимость позволило данным методам использовать их в качестве первичных инструментов при субвидовой оценке штаммов *S.aureus*. Главным преимуществом данных методов является стандартизация. Существуют международные базы данных обеспечивающие международную номенклатуру в типировании *S.aureus*. – MLST база данных с более 5 000 изолятов (<http://saureus.mlst.net/>) и база данных для Spa типов с более чем 15 000 штаммами (<http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>). В сложившейся ситуации возникает вопрос - возможно ли предсказать/установить Spa тип на основе MLST типа и наоборот позволит ли Spa тип указать на MLST тип?

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить MLST и Spa типы на основе полногеномных данных *S. aureus*, а также количественно оценить дискриминирующую способность и конкордантность результатов полученные для MLST и Spa типов.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

5261 геномов *S. aureus*, включая завершенные и опубликованные, а также в виде контигов/скаффолдов были получены из базы GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>). Для определения Spa и MLST типов на основе полногеномных данных использовалась программа Ridom SeqSphere+ software version 1.0 (Ridom, Muenster, Germany).

Оценка дискриминирующей силы методов типирования проводилась на основе индекса Симпсона (Simpson's index) [8]. Количественная характеристика конкордантности Spa и MLST типов оценивалась с использованием Adjusted Wallace (AW) [9] и Adjusted Rand (AR) [10] коэффициентов.

Кластеризация MLST типов с целью определения клональных комплексов проводилась с использованием алгоритма eBURST. В клональный комплекс входят MLST типы которые отличаются всего на 1 аллель из 7.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа 5261 полных генов *S.aureus* в 94,8% случаев были успешно определены MLST типы. Для Spa метода на основе геномных сиквенсов процент определения Spa типов составил 48,7%. Из 4988 MLST данных, уникальных типов было 129 в то время как для Spa типирования уникальных Spa типов было 223 из 2560. Наиболее 10 часто встречающихся субвидовые типы для *S.aureus* детектированные MLST и Spa типированием представлены в таблице 1.

Таблица 1- Частота MLST и Spa типов, определенных на основе полногеномных данных для *S. aureus*.

MLST тип	количество	%	Spa тип	Количество	%
5	1638	32,83881	t002	946	36,95313
8	1203	24,11788	t622	290	11,32813
398	628	12,59022	t011	236	9,21875
105	534	10,70569	t008	124	4,84375
22	218	4,370489	t4695	91	3,554688
239	125	2,506014	t242	75	2,929688
609	84	1,684042	t064	72	2,8125
30	49	0,982358	t688	72	2,8125
45	49	0,982358	t539	50	1,953125

## КЛИНИКАЛЬК МЕДИЦИНА

228	28	0,561347	t108	43	1,679688
-----	----	----------	------	----	----------

Анализ способности внутривидового различия (дискриминирующая способность) показал более высокую разрешающую способность для Spa типирования (83,5%) в сравнении с MLST типированием (80,4%) (таблица 2).

Таблица 2 - Оценка дискриминирующей способности методов субвидового типирования.

Метод типирования	Количество изолятов	Различные типы	Индекс дискриминации (Simpson's index)	95% ДИ
MLST	4988	129	0.804	[0.797 - 0.81]
Spa	2560	223	0.835	[0.822 - 0.848]

Симметричный показатель конкордантности для 2444 изолятов с установленными как MLST так и Spa типами показал 40 % совпадение (adjusted Rand индекс 0.368; 95% ДИ (0,348-0,388)). В тоже время несимметричный показатель конкордантности рассчитанный на основе Adjusted Wallace коэффициенте показал 30% вероятность предсказания Spa типа на основе MLST и 46,3% для MLST используя Spa тип (таблица 3).

Таблица 3 - Оценка конкордантности MLST и Spa типирования рассчитанный на основе коэффициента adj. Wallace.

	MLST	Spa
MLST		0,293 (0,264-0,323)
Spa	0,463 (0,440-0,487)	

Кластеризация на основе алгоритма Mimumum spanning tree позволило определить 4 главных клональных комплекса – MLST КК1, MLST КК2, MLST КК3 и MLST КК4 (рисунок 1), которые включили 2

349 изолятов, что составило 96,1% всех изолятов. Как было установлено, 1 клональный комплекс включает 14 MLST и 101 Spa типов. В 2 MLST Клональный комплекс входят 9 MLST и 42 Spa типов. Третий и четвертый MLST КК содержат по 3 MLST/30 Spa и 4 MSLT/8 Spa различных типов, соответственно (таблица 4). Наличие большего количества spa типов в сравнении с MLST типами входящие в клональный комплекс объясняется более высоким аллельным разнообразием для Spa гена (83,6%) в сравнении с 7 генами домашнего хозяйства (arcc, aroe, glpf, gmk gmk, pta, tpi, yqil) 76,4%.

## КЛИНИКАЛЬҚ МЕДИЦИНА

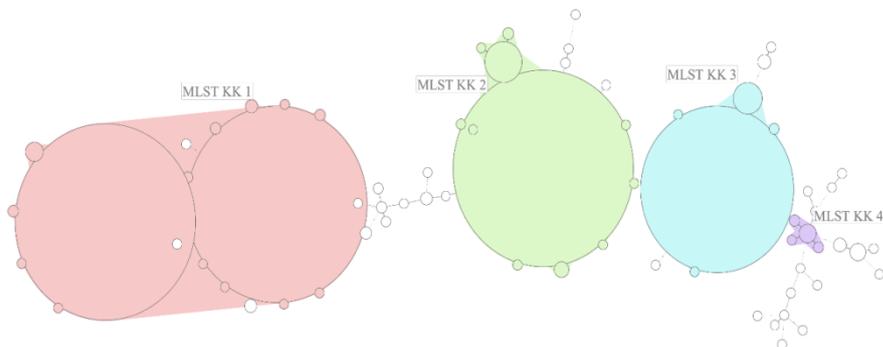


Рисунок 1 - Дендрограмма минимальных дистанций (Minimum spanning tree) MLST типов. В клональный комплекс (MLST КК) вошли MLST- данные, которые отличаются на 1 аллель из 7 (разные клональные комплексы окрашены в разные цвета)  
Таблица 4 - MLST-Spa- типы, входящие в MLST Клональный комплекс.

	MLST	Spa						
	MLST КК 1	5	t002	t509	t11662	t8900	t12961	t4634
105		t4695	t067	t15301	t954	t1340	t5576	t8696
231		t242	t010	t1815	t9561	t14076	t5608	t892
225		t688	t686	t2879	t9816	t14213	t5756	
496		t539	t854	t306	t003	t1473	t586	
1011		t895	t105	t3120	t088	t151	t603	
100		t062	t179	t3819	t10303	t15332	t6071	
632		t9364	t1791	t450	t10422	t1594	t6267	
840		t045	t2352	t535	t110	t2226	t6338	
.								
1186		t143	t3673	t575	t11547	t311	t6379	
1187		t2597	t3794	t6219	t1228	t3562	t640	
1730		t4867	t9283	t6356	t12719	t3746	t6868	
2625		t5607	t1062	t653	t12776	t4371	t7082	
MLST КК 2	8	t622	t334	t1029	t2555	t6238		
	609	t008	t2104	t138	t2658	t711		
	239	t064	t211	t1578	t430	t842		

## КЛИНИКАЛЬК МЕДИЦИНА

	507	t037	t030	t1624	t4407	t8657	
	250	t024	t2849	t1635	t451	t967	
	729	t4219	t648	t1774	t4609	t9877	
	247	t121	t723	t1888	t4816		
	254	t190	t051	t2179	t4919		
	923	t304	t054	t2206	t562		
MLST КК 3		t011	t1184	t4358	t1451	t2287	t3934
	398	t108	t567	t5103	t2922	t2741	t8100
	752	t899	t1939	t1197	t3479	t3015	t8409
	3226	t4132	t034	t1255	t571	t3106	t943
		t1456	t2329	t1334	t1170	t3933	t9747
MLST КК 4	30	t021	t338				
	36	t012	t137				
	243	t018	t3957				
	431	t019	t486				

### ВЫВОДЫ

1. Spa типирование обладает значимо более высокой разрешающей способностью в сравнении с MLST методом в субвидовом типировании бактерий *S.aureus*. Это явление объясняется более высоким аллельным разнообразием полиморфного региона X протеина A гена в сравнении с 7 генами домашнего хозяйства.

2. Предсказательная способность (конкордантность) результатов полученные MLST и Spa типированием не превысили 40%.

3. Наличие различий в дискриминирующей способности и слабой конкорданности между результатами, полученными данными методами, объясняется различными частотой между однонуклеотидными заменами и вариациями повторов. В случае *spa* скорость молекулярных часов намного ниже.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Evangelista Sde, S. and A.C. de Oliveira, Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a global problem.// *Rev Bras Enferm.* - 2015. - V. 68 (1). - P. 128-35, 136-43.

2. Chongtrakool P. et al., Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements.// *Antimicrob Agents Chemother.* - 2006. - V. 50 (3). - P. 1001-1012.

3. Bosch T. et al., PFGE diversity within the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineage ST398.// *BMC Microbiol.* - 2010. - V. 10. - P. 40.

4. Saunders N.A. and Holmes A. Multilocus sequence typing (MLST) of *Staphylococcus aureus*.// *Methods Mol Biol.* - 2014. - V. 1085. - P. 113-130.

5. Furuya D. et al. Evaluation of *spa* typing for the classification of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. // *Jpn J Infect Dis.* - 2010. - V. 63 (5). - P. 364-367.

6. Melles D.C. et al. Comparison of multilocus sequence typing (MLST), pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), and amplified fragment length polymorphism (AFLP) for genetic typing of *Staphylococcus aureus*.// *J Microbiol Methods.* - 2007. - V. 69 (2). - P. 371-375.

7. Ruppitsch W. et al. Classifying *spa* types in complexes improves interpretation of typing results for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. // *J Clin Microbiol.* - 2006. - V. 44 (7). - P. 2442-2448.

## КЛИНИКАЛЬҚ МЕДИЦИНА

8. Simpson E.H. Measurement of species diversity.// Nature. - 1949. - V. 163. - P. 688.
  9. Fowlkes E.B. and Mallows C.L. A method for comparing two hierarchical clusterings. //J. Am. Stat. Assoc. - 1983. - V. (78). - P. 553–569.
  10. Hubert L. and Arabie P. Comparing partitions.// J. Classification. - 1985. - V. 2. - P. 193–218.
- 

### ТҮЙІН

**Бабенко Д.Б., Турмухамбетова А.А.**

Қарағанды мемлекеттік медицина университеті

#### **MLST ЖӘНЕ SPA СЕКВЕНІРЛЕУ НЕГІЗІНДЕ S.AUREUS СУБТҮРЛІК ҮЛГІЛЕУ ӘДІСТЕРІН САЛЫСТЫРМАЛЫ БАҒАЛАУ**

S. aureus-тың MLST және Spa типтік белгілерімен толықгеномды мәліметтер негізінде жүргізілген зерттеу MLST (80,4%) салыстырғанда Spa (83,5%) үлгілеу мүмкіндігі жоғары дискриминациялық қабілеттілікті көрсетті. Екі әдістерден алынған нәтижелерінің бағыттастығы 36,8%(95% ДИ 34,8-38,8) құрады. Spa негізінде MLST үшін болжамды қабілеттілігі 46,3%, MLST мәліметтерін қолдана Spa үшін 29,3% құрады.

### RESUME

**Babenko D., Turmuhambetova A.**

Karaganda state medical university

#### **COMPARATIVE ESTIMATION OF SUBSPECIES TYPING SEQUENCE-BASED METHODS FOR S.AUREUS – MLST**

Research based on the genome-wide of S. aureus with determination of MLST and Spa types showed higher discriminating ability of Spa typing (83,5%) in comparison with MLST (80,4%). Concordance between the results obtained by the two methods was 36.8% (95% CI 34,8-38,8). The predictive ability for the MLST based on Spa types was 46,3%; for the Spa types using MLST data was 29,3%.

---

УДК 616.935-036.11-02.71

**Атыгаева С.К.<sup>1</sup>, Темирбаева М.А.<sup>1</sup>, Рыкова В.С.<sup>1</sup>, Тулегенова Ж.С.<sup>2</sup>, Койшебаева К.Б.<sup>1</sup>, Рахметова Н.Б.<sup>3</sup>, Асемова Г.Д.<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>ГККП «Городская инфекционная больница», Астана

<sup>2</sup>ГКП на ПХВ «Городская больница №1», Астана

<sup>3</sup>АО «Медицинский университет Астана», Астана

#### **ДИНАМИКА ВЫСЕВАЕМОСТИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ ЗА 10 ЛЕТ**

##### **Аннотация**

По результатам микробиологического исследования возбудителей ОКИ за 2004 и 2014 гг. в бактериологической лаборатории городской инфекционной больницы (ГИБ) была обнаружена ведущая роль условно патогенных микроорганизмов (73,2% и