

Менингококковое носительство: эпидемиология, возбудитель, формирование иммунной защиты

Н.Н. Костюкова (nathakos@mail.ru), В.А. Бехало (bekhalo@gamaleya.org)

ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрав России, Москва

Резюме

Дан обзор современных представлений о менингококковом носительстве. Рассматриваются вопросы эпидемиологии менингококкового носительства, фенотипические и генетические особенности носительских штаммов, подчеркивается генетическая неоднородность циркулирующей популяции, реализующаяся в различной степени патогенности носительских штаммов и их раз-ной эпидемиологической значимости. Представлены современные данные об иммунизирующем действии носительства, вызы-вающего общий и местный (мукозный) защитный ответ к генерализованным формам и носительству. Кратко описаны принципы снижения носительства.

Ключевые слова. *Neisseria meningitidis*, менингококк, менингококковое носительство, эпидемический процесс менингококко-вой инфекции, иммунитет при менингококковом носительстве, борьба с менингококковым носительством

Meningococcal Carriage: Epidemiology, Causative Agent, Inducing of Immune Protection

N.N. Kostyukova (nathakos@mail.ru), V.A. Bekhalo (bekhalo@gamaleya.org)

Federal State Budgetary Institution «National Research Center of Epidemiology and Microbiology of N.F. Gamaleya» Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Abstract

A review of the actual problems concerning the meningococcal carriage is presented. The review includes: the epidemiological features of meningococcal carriage, the phenotyping and genotyping characteristics of the carriage strains, the modern models of the carriage, the general and local (mucosal) immune protection induced by the carriage. The significance of genetic and virulence heterogeneity of carriage meningococcal population is underlined.

Key words: *Nisseria meningitidis*, meningococcal carriage, immunity at meningococcal carriage, local mucosal immunity at meningococcal carriage, principles of the meningococcal carriage control

Под менингококковым носительством понимают бессимптомную колонизацию микро-организмом слизистых оболочек ротоглотки человека. По определению Л.В. Громушеского но-сительство – наиболее частая форма взаимоотно-шений человека и менингококка.

Менингококковая инфекция (МИ) является строгим антропонозом с капельным механизмом передачи. Менингококк *Neisseria meningitidis* (N. m.) передается от инфицированного лица другому и ко-лонизирует слизистую оболочку миндалин и зад-ней стенки глотки. Инфекционный процесс чаще всего ограничивается этапом колонизации, то есть носительством. Но у некоторой части (1/4 – 1/5) инфицированных лиц микроорганизм проникает сквозь слой эпителия, не нарушая его, в субэпи-телиальное пространство и вызывает кратковре-менный местный воспалительный процесс – на-зофарингит. И только в редких случаях (1 на сотни и даже тысячи колонизированных) развивается генерализованная форма МИ (ГФМИ) – сепсис (ме-нингококцемия), менингит или их сочетание. Если среди населения в целом ГФМИ встречаются не ча-

сто (2,0 на 100 населения – уже считается эпи-демическим порогом), то среди детей первых лет жизни это не очень редкое заболевание. Заболе-ваемость, достигая высоких показателей в первые 2 года жизни (порядка десятков на 100 тыс. на-селения), резко снижается к возрасту 5 – 10 лет с последующим небольшим пиком к 20 годам. Такое возрастное распределение заболеваемо-сти объясняют различной функциональной ролью носительства. Так, в раннем детском возрасте, после прекращения действия материнских анти-тел (до 3 – 5 мес.), ребенок становится беззащи-тен против МИ и может реагировать на первую встречу с возбудителем не только колонизацией (носительством), но и развитием ГФМИ. Если за-болевание не возникнет, то по мере дальнейших встреч с менингококком постепенно возникает специфическая иммунологическая защита, в про-цессе формирования которой носительство играет положительную роль (см. ниже). Во время активи-зации образа жизни (18 – 20 лет) молодой чело-век встречается с большим числом носителей раз-личных антигенных разновидностей менингококка,

с которыми не контактировал прежде и к которым не выработал иммунитета, в результате чего может возникнуть ГФМИ. Таким образом, носительство является неотъемлемой составной частью эпидемического процесса МИ, играя двоякую роль: иммунизирующего фактора (1) и источника возникновения случаев ГФМИ (2).

Редко встречающиеся ГФМИ, однако даже при современных методах лечения, (включая антибиотикотерапию) характеризуются высокой летальностью (порядка 10% и выше [1, 2]) и тяжелыми неврологическими осложнениями. Поэтому все развитые страны осуществляют эпидемиологический надзор за менингококковой инфекцией, в задачи которого входит и контроль здорового носительства – основного источника и резервуара возбудителя.

Эпидемиологическая характеристика менингококкового носительства

Носительство широко распространено среди населения, однако показатели его распространения зависят от многих факторов – природных, социальных, технических. К числу последних относятся трудности выявления носительства, связанные с низкой устойчивостью менингококка во внешней среде и сложностями его культивирования. Тем не менее большинство исследователей при массовых обследованиях применяют бактериологический метод, несмотря на его несовершенство. К социальным факторам относят, как и при других инфекциях с капельным механизмом передачи, степень общения людей с источниками, зависящая от условий проживания, профессии, особенностей быта и т.п. В частности, доказано, что курение способствует возникновению и распространению носительства *N. m.* [3 – 6]. К природным факторам относятся восприимчивость (или невосприимчивость) населения к колонизации, климатические условия, влияющие на образ жизни людей и распространение возбудителя.

Большинство исследователей, изучавших менингококковое носительство среди здорового населения бактериологическим методом (посев носоглоточной слизи ватным тампоном в чашки с питательной средой и последующим выделением культуры) указывают, что менингококком постоянно колонизировано 5 – 10% людей [4, 7, 8]. По всей вероятности эти показатели занижены, так как получены путем применения классического бактериологического метода. При исследовании тканей миндалин число положительных находок увеличивается в 4 – 5 раз [9 – 11]. В закрытых и полужакрытых коллективах молодежи с высокой теснотой общения – студенты, учащиеся профессиональных школ, солдаты и т.п. – носительство доходит до 50 – 80% [2, 4, 12, – 20]. Инфицирование происходит в основном в спальнях, в столовых, при длительном и тесном общении людей. В окружении заболевших ГФМИ (т.е. в очагах инфекции) носитель-

ство также бывает повышенным [14, 16, 21, 22], однако эта закономерность проявляется не всегда [10, 21]. Нередко в переуплотненных коллективах при высоком распространении носительства случаев заболевания ГФМИ может и не быть [13, 14]. Динамика заболеваемости ГФМИ и распространенность носительства среди населения также совпадают не всегда [2, 10].

При изучении возрастного распределения носительства менингококка выявлены четкие закономерности. Все исследователи, изучавшие этот вопрос, указывают на низкую распространенность носительства у маленьких детей и постепенное возрастание показателей по мере увеличения возраста, с наибольшими значениями у подростков и молодежи. Английский исследователь Christensen H. с соавт. [23] проанализировал и статистически обработал данные многочисленных публикаций по этому вопросу и пришел к выводу, что возрастной пик носительства (в среднем 23,7%) наблюдается в 19 лет, то есть в период начала интенсивных общений людей друг с другом, с медленным постепенным спадом до 7,8% к 50 годам.

При сравнении динамики заболеваемости ГФМИ и носительства в возрастном разрезе отчетливо заметна сильная обратная корреляционная связь между этими двумя процессами, объясняемая постепенным формированием иммунологической защиты индивидуумов к заболеванию благодаря носительству (см. ниже).

По некоторым наблюдениям носительство *N. m.* чаще встречается среди лиц мужского пола, что объясняют скорее интенсивностью общений (армия, работа в крупных коллективах и т.п.), нежели гендерным предрасположением. Для менингококкового носительства характерна та же сезонность, что и для заболеваемости ГФМИ – зимне-весенняя для стран умеренного климата, что связано с образом жизни в период похолодания (частое нахождение людей в закрытых помещениях). Сдвиг в сторону весенних месяцев, в отличие от большинства инфекций с капельным механизмом передачи, объясняется медленной, «вялой» передачей крайне неустойчивого менингококка [22].

Ряд авторов провели длительные динамические наблюдения над процессом носительства в коллективах и получили возможность определить продолжительность носительства [10, 13, 15, 18, 19, 24] путем многократных бактериологических исследований в течение 6 месяцев (срок наблюдения). При этом была выявлена разная длительность носительства. Обобщив данные публикаций и собственных наблюдений, D. Stephens [5] пришел к выводу, что примерно 40% носителей выявляются однократно, 30% являются «перемежающимися», то есть выявляются не при каждом обследовании (что объясняется несовершенством взятия и исследования материала), а у 25 – 30% носительство менингококка затягивается на многие месяцы.

Некоторые исследователи считают, что менин-

гококковой колонизации способствуют вирусные инфекции верхних дыхательных путей (ВДП) [5, 22]. Мы показали, что адгезия менингококка к эпителиальным клеткам гортани Нер-2 усиливается при их инфицировании вирусом гриппа А [25]. Несомненно, что вирусные инфекции ВДП, порождающие и усиливающие такие респираторные акты, как кашель, чихание и т.п., способствуют передаче возбудителя. Несовпадение сезонов подъема заболеваемости и ОРВИ (ноябрь–февраль) и менингококкового носительства (февраль–май) говорит против прямой непосредственной причинно-следственной связи между этими процессами, хотя полностью ее не исключает.

Показано, что отсутствие миндалин не влияет на возникновение носительства [4].

Генетические исследования показали, что распространенность и длительность носительства во многом зависят от штамма менингококка, точнее, от его принадлежности к определенным генетическим клонам [2, 10, 16].

Микробиологические и генетические особенности менингококкового носительства

Биологические свойства менингококка описаны в многочисленных Руководствах и справочниках, поэтому мы ограничимся рассмотрением признаков, имеющих прямое отношение к проблеме носительства – факторов патогенности, антигенного состава и генетической структуры бактериальной популяции. Как все нейссерии, менингококк – грамотрицательный кокк, не образующий спор, не имеющий жгутиков. От клеточной стенки наружу отходят пили (*pilus* – волос, лат.) – тонкие длинные трубчатые выросты, имеющие на концах липкий белок пилин С (PilC), обеспечивающий начальное прикрепление (адгезию) менингококка к поверхности эпителия человека. PilC является одновременно и сигнальным белком, «сообщающим» бактерии о прикреплении. Пили участвуют в процессе конъюгации бактериальных клеток, передавая клеточную и экзогенную ДНК, способствуя генетическому обмену между разными клетками своего и других видов. Пили, благодаря способности к ретракции (сокращению) обеспечивают «прыгающую» подвижность клеток по поверхности. Кроме того, пили участвуют в образовании биопленки на эпителии и скоплениях клеток на внутренней поверхности мозгового эндотелия при прохождении через гемато-энцефалический барьер. Антигенная структура белков пилей (пилинов) крайне разнообразна и варьирует от штамма к штамму.

В образцах из клинического материала (СМЖ, кровь, срезы пораженных тканей) клетки менингококка окружены прозрачными капсулами. Капсулы, состоящие из высокомолекулярных полисахаридов (мол. масса порядка 400 000 кДа) являются важнейшими факторами патогенности менингококка – защищают клетки от антител, комплемента и фагоцитоза, а во внешней среде – от вы-

сыхания в момент нахождения в аэрозоле при передаче от инфицированного лица [10]. Однако капсула быстро утрачивается при пересевах. У носителей в 50% случаев и чаще выделяются бескапсульные штаммы менингококка [4, 18, 21, 23, 26, 27]. Капсулы мешают адгезии и образованию биопленки, поэтому штаммы, способные к образованию капсул, при колонизации не экспрессируют их. Носительство могут вызвать и штаммы, не образующие капсул, так как не содержат соответствующего гена (оперона *cps*) [18]. Капсулы разных штаммов неоднородны по химической а, следовательно, и по антигенной структуре, и на этом основании популяция вида менингококка подразделяется на 12 серологических групп А, В, С, Н, I, K, L, X, Y, Z, W, 29E. Капсульные полисахариды являются протективными антигенами.

Находящаяся под капсулой наружная мембрана трехслойной клеточной оболочки содержит большое количество белковых структур, выполняющих важнейшие функции – адгезию, протеолиз, инвазию, связывание железа, связывание комплемента и т.д. Значительную часть наружной мембраны составляют липополисахариды (LOS), обладающие свойствами эндотоксина и также неоднородные в антигенном отношении, на основании чего вид делят на иммунотипы.

Основные белки наружной мембраны (БНМ) по молекулярной массе разделены на 5 классов (от 47 до 24 кДа) [29]. Среди них важнейшими являются белки 1-го класса, обозначенные как PorA (P1) с мол. массой 46 ± 1 кДа. Эти белки, как и белки 2/3 классов PorB (P2 и P3, мол. масса 37 – 42 кДа) играют роль поринов, так как формируют в клеточной оболочке поры, необходимые для питания бактерии. Каждый штамм имеет или P2 или P3. Однако встречаются штаммы, лишенные PorA или PorB или обоих пориновых белков [27]. Порины играют существенную роль как факторы патогенности при взаимоотношениях менингококка с клетками человека. Так, PorA препятствует гибели менингококка под влиянием сыворотки и фагоцитоза, благодаря чему способствует выживанию бактерии в крови. Порин А вызывает образование специфичных бактерицидных антител. PorB участвует в инвазии менингококка в эпителиальные клетки и трансцитозе сквозь них, а также способствует выживанию внутри фагоцита. На стадии колонизации эти белки не играют существенной роли.

По антигенной структуре порины различных штаммов весьма разнообразны, что позволило разделить вид менингококка по поринам В на серотипы, а по поринам А – на субтипы. Замечено, что каждой капсульной серогруппе примерно соответствует определенный набор типовых и субтиповых антигенов, однако это не является строгой закономерностью, и особенно среди штаммов групп В, С и Y выявляются одни и те же белковые антигены. Типовые и субтиповые белки менингококка явля-

ются протективными антигенами, что позволяет использовать их в качестве компонентов вакцин [30].

Белки 4-го класса близки у менингококка и гонококка и не учитываются при антигенной маркировке штаммов. Нет прямых сведений об их участии в колонизации.

Белки 5-го класса (мол. масса 23 ± 1 кДа) Ора и Орс – весьма вариабельные и гетерогенные по структуре, узко специфические протективные антигены, играющие роль адгезинов. Они способствуют тесной («интимной») адгезии менингококка к эпителию после ретракции пилей; белок Орс участвует далее в инвазии в клетки и потому называется «инвазином». В колонизации принимают участие минорные БНМ – NadA, NspA, NhhA, HrpA, ACP, MspA, NalP и др., играющие роль адгезинов и протеаз [31]. Колонизации способствует вырабатываемая менингококком IgA1-протеаза, расщепляющая секреторный иммуноглобулин A1.

Ригидной основой клеточной стенки менингококка, как и у прочих грамотрицательных бактерий, является пептидогликан, занимающий пространство под наружной мембраной. Третьим слоем клеточной стенки считают наружный слой эндоплазмы бактерии, богатый ферментами, в том числе секретируемыми наружу.

Отличаются ли по фенотипическим свойствам носительские штаммы менингококка от инвазивных (или гипервирулентных), вызывающих ГФМИ? Несомненно, такие отличия имеются, хотя резкой границы между ними выявить не удастся. Так, заболеваемость вызывают преимущественно штаммы серогрупп A, B, C, Y, W, хотя они встречаются и у носителей. Особенно крупные эпидемии связывают с серогруппой A. Серогруппа X выделяется от тех и других, а остальные серогруппы встречаются только у носителей. Носительские штаммы могут не экспрессировать капсул. Выявлено обязательное присутствие у инвазивных штаммов фермента гиалуронидазы – общепризнанного фактора распространения менингококка в соединительной ткани. У носительских штаммов этот фермент обычно отсутствует [13]. Зато от носителей, особенно длительных, выделяются штаммы с повышенной антилизотимной активностью, подавляющей бактерий-антагонистов менингококка на слизистой оболочке носоглотки [13].

Колонизация, то есть носительство, протекает бессимптомно. Попав с аэрозолем, выделяемым инфицированным лицом, (напоминаем, что единственным хозяином для менингококка является человек), в верхние дыхательные пути другого лица, микроорганизм с помощью пилей прикрепляется к рецепторным молекулам эпителия. На этом этапе капсула не экспрессируется, так как она мешает адгезии. Кокки «расползаются» по эпителию с помощью пилей и, размножаясь, образуют микроколонию. Через несколько часов пили ретрагируются (втягиваются, сжимаются) и осуществляется более плотная адгезия благодаря белкам 5-го класса Ора

и Орс, а также минорным белкам – NhhA, NadA, HrpA и др. [31].

Микроколонию являются основой многослойных поверхностных сообществ – биопленок, толщина которых зависит от свойств штамма. Некоторые штаммы, выделяющиеся преимущественно от носителей, но никогда или редко при ГФМИ, образуют плотные длительно сохраняющиеся биопленки. Эти штаммы называют «оседлыми». или «хорошими колонизаторами» [10]. В противоположность им некоторые образуют слабую тонкую биопленку, но быстро инвазируются сквозь эпителий в подслизистое пространство, что характеризуется клиническими признаками острого назофарингита. При дальнейшем развитии инфекционного процесса менингококк проходит сквозь эндотелий небольших сосудов, используя белки Ора и Орс, проникает в кровяное русло и далее, если удастся, сквозь ГЭБ, вызвав гнойный менингит. Такие штаммы называют «распространяющимися» [11].

При носительстве инфекционный процесс ограничивается бессимптомной колонизацией входных ворот и образованием биопленки. В процессе формирования биопленки, наряду с образованием микроколоний, происходит аутолиз бактериальных клеток, благодаря которому в среду высвобождаются белки, ЛОС, липопроотеины, частицы пептидогликана и ДНК, образующие матрикс. ДНК является «скрепляющим» материалом, способствующим формированию стабильного матрикса [11]. Клетки менингококка оказываются заключенными в матрикс. Известно, что бактерии, заключенные в биопленку, более устойчивы к антибиотикам, чем планктонные (свободные) клетки [32]. Это, прежде всего, объясняют механическим препятствием для диффузии антибиотиков со стороны матрикса. Однако «биопленочные» менингококки устойчивы к пенициллину, но не к рифампицину и ципрофлоксацину. Это может быть связано с особенностями действия пенициллина – он подавляет рост только размножающихся бактерий, а у клеток, заключенных в биопленку, процессы метаболизма снижены [31]. Заключенные в биопленку клетки снова восстанавливают капсулу [31], отсутствовавшую на стадии колонизации. Вероятно, капсула защищает менингококки, заключенные в биопленку, от факторов местного, гуморального и клеточного, иммунитета. Именно защитной ролью капсулы (а не только матрикса) объясняют длительное носительство менингококка на фоне развившегося местного иммунитета (см. ниже). Благодаря биопленке осуществляется длительное сосуществование менингококка и его хозяина – персистенция.

Как уже указывалось, корреляция между распространенностью носительства и заболеваемостью улавливается не всегда, что во многом объясняется гетерогенностью циркулирующих штаммов. В известной мере отграничить низко вирулентные, склонные к «оседлости» штаммы от «распространяющихся» гипервирулентных можно по их антиген-

ной структуре – принадлежности к определенным серогруппам, типам, субтипам. О неравнозначной степени патогенности различных серогрупп уже упоминалось выше. В какой-то мере типы и субтипы оказались «приурочены» к определенным серогруппам, особенно у серогруппы А. При этом все исследователи отмечают широкую фенотипическую (по антигенной структуре и вирулентности) гетерогенность менингококков, выделяемых от носителей. [10, 13, 16, 33] и определенную монолитность «инвазивных» изолятов. Полнее всего выявить роль гетерогенности популяции менингококков в течение эпидемического процесса помогли генетические исследования возбудителя. Были предложены различные методы генетической маркировки циркулирующих штаммов. К настоящему времени, благодаря мультилокусному секвенированию (multilocus sequens typing – MLST, англ.) нескольких консервативных генов менингококка удалось выявить конкретные генетические линии (клоны) – сиквенс-типы (ST), различающиеся по степени патогенности (вирулентности) и антигенной структуре и относящиеся к «оседлым» или «распространяющимся». Близкие по генетической характеристике клоны объединены в клональные комплексы (clonal complexes, англ. – CC). [2, 26, 34, 35]. Сравнение генетической структуры инвазивного и носительского штаммов, принадлежащих к одному клональному комплексу, выявило у них по крайней мере 10% различий в составе генов, ответственных за экспрессию факторов патогенности [36]. MLST позволило создать общественное, интернетное электронное хранилище (базы) данных о тысячах изолятов, выделяемых в различных частях мира, что дает возможность сравнивать и обобщать результаты, полученные в разных лабораториях [37]. Анализ этих данных выявил генетические различия между гипервирулентными (инвазивными) и носительскими штаммами менингококка, а именно: относительную генетическую гомогенность первых и широчайшую гетерогенность вторых [2, 16, 26, 34]. При этом в циркулирующей популяции клональные комплексы инвазивных ST занимают небольшую долю (до 10%) [4, 5]. Эти клоны встречаются не чаще, чем у 1% носителей. Бывают клоны, характерные как для ГФМИ, так и для носительства [2]. Еще более высокую дискриминирующую способность для вида *N. meningitidis* имеет полногеномное секвенирование [20].

В то же время считается, что генетически разнообразные, мало вирулентные носительские штаммы являются резервуаром множества генов. Благодаря «горизонтальным» заимствованиям этих генов клетками менингококка и рекомбинациям [38], в популяции формируются новые, порой высоковирулентные (инвазивные) клоны, приобретающие селективное преимущество, так как не «узнаются» иммунной системой человека. Описаны факты такого переноса генов, сопровождающегося приобретением новых свойств, при совместной ко-

лонизации несколькими клонами и видами менингококка [16, 20].

Таким образом, генетическая маркировка штаммов выявила крайнюю неоднородность менингококковой популяции по степени патогенности (вирулентности), что проявляется неполным соответствием распространенности носительства и заболеваемости (см. выше), обусловленной лишь ограниченным набором генотипов.

Модели менингококкового носительства

К заражению менингококком восприимчив только человек, что затрудняет изучение инфекции с помощью моделирования на животных. Недавно было предложено заражать макак-резус видами нейссерий, индигенных для этих животных, в частности – *N. macacae*. В результате у обезьян была воспроизведена колонизация, длящаяся до 72 дней [39]. Колонизирующим нейссериям удалось передать некоторые факторы патогенности менингококка. Модель может быть перспективной, по мнению ее создателей, для изучения молекулярных механизмов колонизации, передачи, персистенции и горизонтального переноса генов микроорганизмами, а также для доклинических испытаний кандидатов в вакцину. Однако моделирование носительства на обезьянах дорого и небезопасно для окружающих лиц. Недавно были предложены гораздо менее затратные и более простые модели на мышах. Одна из моделей основана на известном ранее феномене повышенной восприимчивости к менингококку при избытке железа [40]. В этих условиях усиливается адгезия менингококка к человеческим рецепторам бактериальных железо-связывающих белков – трансферрин- и лактоферрин-связывающих, что способствует колонизации слизистых оболочек. Беспородным мышам-самкам вводили внутрибрюшинно железный декстран, и через 2 – 3 часа интраназально культуру менингококка, после чего ежедневно продолжали вводить железный декстран. Вместо него можно вводить белок человека – голотрансферрин. Носительство менингококка в носу продолжалось столько дней, сколько мыши получали препарат железа. На этой модели авторы изучали роль отдельных структур менингококка в колонизации и иммунном ответе при носительстве. Другая модель носительства предложена Johswich K.O. с соавт. [41]. Использовались трансгенные мыши, экспрессирующие на поверхности клеток носового эпителия человеческий белок CEACAM-1 (canceroembryonic antigen-related adhesion molecule, англ.) – адгезивную молекулу, широко представленную в тканях человека. CEACAM-1 является рецептором для поверхностного менингококкового белка Ора, обеспечивающего тесное прикрепление стенки бактерии, после ретракции пилей (см. выше) к поверхности эпителиальной клетки. Варианты CEACAM-3,-5,-6,-7 не участвовали в колонизации менингококком. Носительство

продолжалось 5 – 6 месяцев. Однако считать эту модель полностью тождественной носительству менингококка у человека едва ли правомерно, так как у мышей имелись признаки воспаления слизистой оболочки, а у человека процесс носительства протекает бессимптомно.

Exley К.М. с соавт. [42] в качестве органической культуры применили эксплантат слизистой оболочки нижней носовой раковины человека и получили колонизацию эпителия менингококком. В последние годы для изучения процессов колонизации и образования биопленок используют клеточные культуры. В частности, Neu А. с соавт. [43] с успехом применили линию бронхиальных клеток человека 16НВЕ12 для изучения колонизации менингококком в течение 21 дня.

Иммунный ответ и воспаление

О возникновении защитного иммунного ответа после перенесения носительства менингококка косвенно свидетельствуют возрастное распределение носительства и его обратная корреляционная связь с возрастным распределением клинически манифестированных случаев. Получение прямых доказательств до последнего времени ограничивалось отсутствием адекватной биологической модели. Однако к концу 60-х г.г. XX века было показано не только накопление в крови носителей специфических IgG к капсульным полисахаридам менингококка, но и выявлена положительная корреляция этих антител с уровнем бактерицидных свойств сывороток у перенесших носительство лиц [44]. С этого времени началось и продолжается успешное применение вакцин на основе группоспецифических капсульных полисахаридов менингококка [30]. Однако слабая иммуногенность полисахарида одной из важнейших разновидностей менингококка – серогруппы В вынудило исследователей искать иммунный ответ на другие защитные антигены. Оставалась неясной иммунизирующая роль бескапсульных форм, столь характерных для носительства. В настоящее время известно уже более 10 поверхностных белковых структур менингококка, обладающих свойствами протективных антигенов. Но реализуются ли эти свойства при бактерионосительстве? К концу XX – началу XXI века, благодаря интенсивному развитию новых методов исследования (генетическая идентификация и маркировка менингококковых штаммов, использование рекомбинантных и мутантных штаммов, ИФА с применением моноклональных антител, иммуноблоттинг, иммунофлуоресцентная микроскопия, проточная цитометрия и т.п.) удалось показать, что носительство менингококка вызывает системный иммунный ответ, в конечном итоге защищающий человека от генерализованной инфекции – сепсиса и менингита. Защита осуществляется, главным образом, за счет специфических IgG к целому комплексу поверхностных антигенов бактериальной клетки и реализуется

в виде бактерицидной активности сыворотки крови. Антитела и комплемент откладываются на поверхности бактериальной клетки с образованием мембрано-атакующего комплекса, что приводит к ее лизису [45]. Бактерицидные антитела являются основой иммунологической защиты против системной (генерализованной) менингококковой инфекции и приняты, как «золотой стандарт» измерения защищенности [46]. Однако возникающий защитный эффект строго специфичен и зависит от набора антигенов штамма, вызвавшего носительство. В этом плане ответ сходен с таковым после перенесения манифестированного заболевания. Еще в 90-е г. XX века было показано, что у больных генерализованными формами при благоприятном исходе к началу 2-й недели болезни, помимо антикапсульных антител, появляются в крови IgG к узко штаммо-специфическому (так называемому субтиповому) антигену – белку 1 класса PorA [47, 48]. В первые дни болезни антитела отсутствовали. К этому времени уже было известно о протективных свойствах белка PorA, который успешно применялся в составе вакцин против менингококка В в Норвегии, на Кубе и Новой Зеландии, обеспечивая защищенность только к циркулирующему штамму, содержащему PorA, гомологичный вакцинному [30]. При носительстве, особенно длительном, также отмечено увеличение уровня сывороточных антител к капсульному полисахариду и субтиповому белку PorA инфицирующего штамма; наличие этих антител прямо коррелировало с повышенной бактерицидной активностью сыворотки. У части носителей удавалось обнаружить антитела к типовым антигенам 2/3 класса, адгезинам Ора белкам пилей и липоолигосахариду, но уровень этих антител не коррелировал со степенью бактерицидной активности. Если носитель был одновременно колонизирован двумя или более штаммами разных субтипов, то у него возникали антитела ко всем субтиповым антигенам [15]. Уровень антител к PorA был тем выше, чем длительнее продолжалась колонизация. Robinson К. с соавт. [18] получили сходные данные и при этом показали, что носительство сопровождается специфической активизацией Т-клеток.

Эти исследования подтвердили, что перенесение носительства, по крайней мере длительного, создает гуморальную защиту человека от генерализованного заболевания. Защита формируется преимущественно за счет группоспецифического капсульного полисахарида и белкового субтипового антигена PorA. Есть, однако, указания на то, что эта защита не является абсолютной. В 1999 году описан случай ГФМИ средней тяжести у студента, бывшего носителем на протяжении 7 предшествующих месяцев. Носительский штамм менингококка, неоднократно выделявшийся у этого студента, по всем серологическим и генетическим маркерам был полностью идентичен штамму, выделенному из спинномозговой жидкости во время

болезни. В течение носительства и накануне заболевания студент не перенес никакой вирусной инфекции, что было подтверждено лабораторно. Активность его комплемента была нормальной. В конце заболевания у больного появились защитные антитела к менингококку в высокой концентрации, что свидетельствовало о его нормальной иммунологической реактивности по отношению к возбудителю [49]. Альтернативой объяснения этого случая может быть отсутствие наших знаний о еще каких-то протективных антигенах менингококка, которые не участвовали в формировании иммунной защиты у данного лица. Редкость или даже отсутствие подобных описаний в литературе связаны с малым количеством длительных наблюдений за судьбой носителей. Но все-таки в основном принято считать, что носительство, по крайней мере длительное, обеспечивает иммунную защиту носителя от ГФМИ, вызванной гомологичным штаммом. О роли перенесенного носительства в защите от системного менингококкового заболевания свидетельствует и обратная связь между возрастным распределением заболеваемости и накоплением у населения специфических IgG, соответствующим увеличению бактерицидной активности сывороток [7, 44, 50]. При этом видно, что возрастная динамика роста защитного иммунитета совпадает с возрастным распределением носительства (см. выше [23]).

Формируется ли защита к носительству? В общем надо ответить утвердительно, так как человек рано или поздно освобождается от колонизации. Но почему колонизация бывает длительной? Защищает ли она от последующих эпизодов носительства? Для ответа на эти вопросы необходимо рассмотреть проблему местного иммунитета при носительстве менингококка. Еще в 1994 году было показано, что IgA и IgM слюны препятствуют адгезии менингококка к эпителию, а, следовательно, и колонизации [51]. Исследователи изучали специфические иммуноглобулины в слюне, а также клеточные реакции небных миндалин. В 2003 году на моноцитах небных миндалин здоровых детей и взрослых было показано, что к антигенам менингококка формируется иммунологическая память, опосредованная Т-клетками. Величина клеточного пролиферативного ответа на мукозном уровне строго коррелирует с возрастом [52]. Ответ был связан с рядом поверхностных антигенов, в том числе с PorA, (но не с липоолигосахаридом – эндотоксином), и не зависел от бактерицидной активности сыворотки крови. Иммунизация с помощью полисахаридных и белковых менингококковых вакцин [53, 54, 55] показала, что в слюне привитых накапливаются иммуноглобулины классов A и G, причем IgG проникают в слюну из крови, а IgA вырабатывается местно независимо от его содержания или отсутствия в крови. Сходная картина была выявлена при бактерионосительстве. В обстоятельных многоплановых исследованиях английских

авторов [3, 18] было показано, что у здоровых детей по мере их роста в слюне увеличивается содержание IgA, специфических к менингококку, как результат встреч с этим микроорганизмом. Титры IgA при этом были особенно высоки в отношении штаммов, содержащих антиген PorA. Титры IgG, выявленные в слюне носителей, не возрастали и, по-видимому, проникали в нее из крови. Однако рост уровня IgA при носительстве мутантного штамма, лишенного PorA, говорит о роли и других антигенов менингококка, участвующих в формировании мукозного иммунитета [52]. Сделано заключение, что именно специфические секреторные IgA на слизистой оболочке носоглотки являются основным препятствием для проникновения инфекта в кровь при инфицировании вирулентным штаммом, а также ответственны за клиренс (очищение) от колонизации менингококком.

Возникает вопрос: защищает ли перенесенное носительство от повторной колонизации менингококком? Еще в 1998 году Jones G.R. [17] с соавт. путем скрупулезного изучения процесса носительства в коллективе показали, что при повторной колонизации выделялись штаммы иных антигенных вариантов, нежели первоначальный, что было подтверждено и в других исследованиях [10, 15, 19, 27]. На модели мышей-носителей показано, что они были невосприимчивы к повторной колонизации штаммом, гомологичным первоначальному, но не были устойчивы к штаммам с другими антигенными маркерами (серогруппа, серотип, субтип) [41, 46]. Однако иногда отмечалась и перекрестная устойчивость к гетерологичным штаммам даже иной серогруппы, что говорит о наличии у менингококка неизвестных пока общих протективных антигенов, как и предполагали авторы прошлых десятилетий [15, 52]. Защита от повторной колонизации не коррелировала с уровнем бактерицидных антител в крови. Длительность невосприимчивости к новой колонизации после перенесения носительства неизвестна. В отделяемом носа мышей-носителей выявляли специфические IgA, уровень которых коррелировал со степенью защиты от повторного заражения. Микроскопические исследования показали, что специфические секреторные IgA ингибировали адгезию менингококков и агрегацию бактериальных клеток, облегчая их уничтожение с помощью комплемента. Иммунизация трансгенных мышей конъюгированной полисахаридной вакциной обеспечивала группоспецифическую защиту от колонизации капсульными штаммами менингококка за счет IgG, проникающих в слизистую носа из крови [41].

Итак, носительство оказывает иммунизирующее действие в двух направлениях: 1 – стимулирует выработку системного специфического иммунного ответа, защищающего человека от генерализованной инфекции, и 2 – вызывает местный (мукозный) иммунитет, приводящий к освобождению от колонизации менингококком и защищающий от повтор-

ного заражения.

Исследователи, изучавшие менингококковое носительство на трансгенных мышах, отмечали у них признаки местного воспаления – увеличение некоторых провоспалительных цитокинов, приток нейтрофилов, активацию комплемента, что способствовало очищению слизистой от менингококка. Возникает вопрос: почему у человека колонизация патогенным «гноеродным» возбудителем, способным вызвать воспаление в субэпителиальном пространстве (назофарингит) и тяжелый септический процесс, не сопровождается признаками воспаления колонизированной слизистой оболочки? На этот вопрос имеется несколько равнозначных по достоверности ответов. Так, известно, что колонизация слизистых гонококком – родственной менингококку нейссерией сопровождается выраженным гнойно-воспалительным процессом, в том числе за счет действия высвобождающихся фрагментов (обломков) пептидогликана – компонента бактериальной оболочки. Эти фрагменты индуцируют выработку провоспалительных цитокинов (путем распознавания внутриклеточного рецептора NOD-1, активирующего, в свою очередь, ядерный фактор NF- κ B, ответственный за продукцию этих цитокинов). Однако у менингококка, в отличие от гонококка, фрагменты пептидогликана захватываются клетками менингококка обратно и перерабатываются до мелких фрагментов, выделяемых наружу, но неспособных уже стимулировать NF- κ B и, таким образом, не вызывают воспалительную реакцию, обеспечивая микроорганизму длительную бессимптомную колонизацию [56].

Другим фактором, обеспечивающим толерантность к колонизации, является поверхностный многофункциональный консервативный белок адгезин менингококка NhhA. Одна из его функций – препятствие образованию мембрано-атакующего комплекса на стенке бактерии [57]. Вдобавок недавно было показано, что NhhA блокирует дифференциацию моноцитов слизистой оболочки в мигрирующие дендритные клетки (факторы врожденного иммунитета) и способствует превращению моноцитов в макрофаги определенного фенотипа, не образующие медиаторов провоспалительных цитокинов, но усиливающих выход IL-10 и Th-2 – регулирующих клеток [58]. Таким образом, благодаря NhhA менингококк ограничивает воспалительную реакцию и «уклоняется» от комплемента и макрофагов, что способствует его персистенции на слизистой оболочке.

Еще одним существенным обстоятельством, способствующим безопасному существованию менингококка на слизистой оболочке носоглотки, является постоянная, так называемая «фазовая» изменчивость его поверхностных антигенных структур, одновременно являющихся факторами патогенности. Изучение штаммов, выделяемых в динамике от носителей, выявило частые мутации в простых повторах последовательностей

генов, что проявлялось снижением или даже выключением экспрессии поверхностных белков менингококка через 1 – 2 суток после инфицирования – адгезинов, инвазинов, железосвязывающих, комплемент-связывающих белков [19, 59]. Возникают временные «фазотипы» менингококка, лишенные многих протективных антигенов и факторов инвазии, являющихся мишенями для местных антител. Это позволяет менингококку «уклоняться» от факторов местной защиты. Однако белок PorA был постоянно высоко экспрессирован в носительских штаммах, что соответствовало повышенному уровню соответствующих IgG в крови носителей. Этот факт подтверждает важную роль иммунного ответа к субтипovому белку PorA для защиты от генерализованной формы менингококковой инфекции.

Одним из способов защиты менингококка при колонизации, как уже говорилось, является образование биопленки. Оказалось, что регулятором этого процесса является белок NalP – протеаза, расщепляющая другие, участвующие в образовании биопленки белки NHBA и IgA-протеазу. Фазовое снижение экспрессии NalP в течение колонизации приводит к образованию более плотной и объемной биопленки [16], что способствует персистенции менингококка. Не исключено, что и другие фазовые изменения антигенов менингококка происходят в клетках, заключенных в биопленку. Таким образом, фазовые изменения – временное снижение или выключение белков, являющихся антигенами и факторами патогенности, способствует бессимптомной персистенции менингококка, то есть носительству.

Принципы формирования защиты от колонизации менингококком

Учитывая крайнюю неоднородность менингококковой популяции по степени патогенности, результативными могут оказаться меры по борьбе с носительством только инвазивных (гипервирулентных) клонов. Такие носители могут находиться в окружении заболевших ГФМИ, то есть в очагах. Теоретически в очагах имеет смысл выявлять носителей и проводить им антибиотикотерапию. Однако, несмотря на довольно высокую чувствительность менингококка к большинству общепотребляемых антибиотиков [61], применение этих препаратов для санации носителей оказалось мало результативным. Это объясняется формированием биопленки менингококком в процессе носительства. Матрикс биопленки препятствует проникновению в нее антибиотика, а заключенные в биопленку клетки изменяют свой метаболизм в сторону повышения устойчивости к ряду антибиотиков. Кроме того бактериологический метод выявляет не всех инфицированных лиц, занимает 3 суток, в течение которых могут произойти новые заражения, которые останутся не учтенными. Наиболее успешной оказалась химиопрофилактика носительства – применение антибиотиков в корот-

кие сроки всем лицам в окружении заболевшего ГФМИ, в том числе в случаях, когда биопленка еще не успела сформироваться. Круг санируемых лиц определяется эпидемиологом на месте. В России применяется химиофилактика, рекомендуемая ВОЗ, с помощью рифампицина, цiproфлоксацина или ампициллина, *per os* [62].

Существенным вопросом является влияние массовой вакцинации на носительство. Высокая эпидемиологическая эффективность современных менингококковых вакцин в отношении заболеваемости ГФМИ доказана [30]. Резкое снижение случаев ГФМИ – мощных источников инфекции всегда влечет за собой косвенное снижение носительства инвазивного штамма. Применение современных вакцин на основе капсульных полисахаридов, конъюгированных с белком, достоверно

приводит к снижению носительства штамма, го-мологичного серогруппе вакцины [30]. Приведенные выше данные о развитии местного иммунитета (в носоглотке) после введения современных вакцин свидетельствуют об их прямом иммунологическом воздействии на колонизацию менингококком [41, 53 – 55]. Поэтому массовая вакцинация населения против инвазивных клонов менингококка, мнению Maiden M.C.J. и Frosh M., [63] приведет к искоренению, (т.е. уничтожению возбудителя) менингококковой инфекции. Но только до тех пор, пока в популяции циркулирующих носительских менингококков не сформируется новый гипервирулентный (инвазивный) генетический клон. Так что эрадикация менингококка, означающая полное исчезновение возбудителя на Земле, сегодня не представляется возможной. ■

Литература

1. Королева И.С., Королева М.А., Белошицкий Г.В. Современная эпидемиологическая ситуация по менингококковой инфекции в Российской Федерации и возможности вакцинопрофилактики. *Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена* 2016; (6): 15 – 17.
2. Caugant D.A., Maiden M.C.J. Meningococcal carriage and disease – population biology and evolution. *Vaccine*. 2009; 27 (4): B64 – B70.
3. Horton R.E., Stuart H., Christensen H., Borrow R., Guthrie T., Davenport V. et al. Influence of age and carriage status on salivary IgA to *Neisseria meningitidis*. *Epidemiol. Infect.* 2005; 133: 883 – 889.
4. Caugant D.A., Hoiby E.A., Magnus P., Scheel O., Hoel F., Bjuna G. et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in randomly sampled population. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32 (2): 323 – 330.
5. Stephens D. Onlooking the meningococci: dynamics of carriage and disease. *Lancet*, 1999, 353: 941 – 942.
6. Neal K.R., Nguen-Van-Tam S., Jeffrey N., Black R.C.B., Madely R., Ait-Tahar K. et al. Changing carriage rate of *Neisseria meningitidis* among university students during the first week of term: cross-sectional study. *Brit. Med. J.*, 2000, 320: 846 – 849.
7. Trotter C.L., Gay N.J., Edmunds W.J. The natural history of meningococcal carriage and disease. *Epidemiol. Infect.* 2006; 134: 556 – 566.
8. Claus H., Maiden M.C.J., Wilson D.J., McCarthy N.G., Jolley K.A., Urvin R. et al. Genetic analysis of meningococci, carried by children and young adults. *J. Infect. Dis.*, 2005; 191: 1263 – 1271.
9. Sim R.J., Harrison M.M., Moxon E.R., Tang C.M. Underestimation of meningococcus in tonsillar tissue by nasopharyngeal swabbing. *Lancet*, 2000, 326, iss. 9242: 1653 – 1654.
10. Caugant D.A., Tsanakaki G., Kriz P. Lessons from meningococcal carriage studies. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007; 31: 52 – 63.
11. Lappan M., Vogel U. Biofilm formation by the human pathogen *Neisseria meningitidis*. *Med. Microbiol., Immunol.* 2010; 199: 173 – 183.
12. Покровский В.И., Фаворова Л.А., Костюкова Н.Н. Менингококковая инфекция. Москва; Медицина. 1976.
13. Мильдзихова И.Б. Эпидемиологическая и микробиологическая характеристика менингококкового носительства в период спада заболеваемости. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва; 1994.
14. Максина Т.А. Эпидемиологическая значимость носителей менингококка в очагах менингококковой инфекции. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2011.
15. Jordens J.Z., Williams J.N., Jones G.R., Christidoules M., Heckels J.E. Development of immunity to serogroup B meningococci during carriage *Neisseria meningitidis* in a cohort of university students. *Infect. Immun.*, 2004, 72 :6503 – 6510.
16. Yazdankhan S.P., Caugant D.A. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carrier state. *J. Med. Microbiol* 2004; 53: 821 – 832.
17. Jones G.R., Christidoules M., Brooks J.L., Miller A.R.O., Cartwright K.A.V., Heckels J.E. Dynamics of carriage in a group of military recruits: subtype stability and specificity of immune response, following colonization. *J. Infect. Dis.*, 1998; 178: 451 – 459.
18. Robinson K., Neal K.R., Howard C., Stockton J., Atkinson K., Searth E., et al. Characterization of humoral and cellular immune response elicited by meningococcal carriage. *Infect. Immun.*, 2002; 70: 1301 – 1309.
19. Bidmos F.A., Neal K.R., Oldfield N.J., Turner D.P.J., Ala'Aldeen D.A.A., Bayliss Ch. Persistence, replacement and rapid clonal expansion of meningococcal carriage isolates in 2008 university students cohort. *J. Clin. Microbiol.*, 2011; 49 (2): 506 – 512.
20. Mulhall R.M., Brehony C., O'Connor L., Meiler K., Jolley K.A., Bray J. et al. Resolution of a protected serogroup B meningococcal outbreak with whole genome sequencing shows interspecies genetic transfer. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54 (12): 2891 – 2898.
21. Дударева В.В. Характер эпидемического процесса менингококковой инфекции в Ленинграде. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ленинград; 1974.
22. Фаворова Л.А., Генчиков Л.А. О распространенности носительства менингококка. *Журн. микробиол.* 1966; 9: 25 – 29.
23. Christensen H., May M., Bowen J., Hickman M., Trotter C.L. Meningococcal carriage by age: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.*, 2010, 10, (12): 853 – 861.
24. Glitza I.C., Miller-Pebody B., Reintjes R., Breuer T., Ammon A., Sonntag H.G. Longitudinal study of meningococcal carrier rate in teenagers. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2008; 211 (3 – 4): 263 – 272.
25. Kostyukova N.N., Alexeev A.B., Gorlina M.Ch., Mironova T.K., Klitsunova N.V., Gorokhova L.V., Gosteva V.V. A study on meningococcal colonization of epithelium. In: *Neisseria 1990*, ed. M. Achtman et al. Walter de Gruyter. Berlin New-York 1991: 609 – 6114.
26. Миронов К.О., Тагаченкова Т.А., Королева И.С., Платонов А.Е., Шипулин Г.А. Генетическая характеристика штаммов *Neisseria meningitidis*, выделенных от здоровых носителей в очагах менингококковой инфекции. *Журн. микробиол.*, 2011, 2: 22-27
27. Ala'Aldeen D.A.A., Neal K.R., Ait-Tahar K., Nguen-van-Tam J.S., English A., Falla T.J. et al. Dynamics of meningococcal long-time carriage among university students and their implication for mass vaccination. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 36 (6): 2311 – 2316.
28. Claus H., Maiden V.C.J., Maag K., Frosh M., Vogel H. Many carried meningococci lack the genes required for capsule synthesis and transport. *Med. Microbiol.* 2002; 148, iss. 6: 1813 – 1819.
29. Tsai C.-M., Frash C.E., Maag K., Vogel H., Structural classes of major outer membrane proteins in *Neisseria meningitidis*. *J. Bacteriol.* 1981; 146, (4): 169 – 178.
30. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Современные менингококковые вакцины: сильные и слабые стороны, ближайшие перспективы. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*, 2016; (4): 64 – 73.
31. Neil R.V., Apicella M.A. Clinical and laboratory evidence for *Neisseria meningitidis* biofilms. *Future Microbiol.* 2009; 4: 555 – 563.
32. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. *Журн. микробиол.* 2011; (3): 99 – 109.
33. Горлина М.Х., Костюкова Н.Н., Мильдзихова И.Б., Чернышева Т.Ф., Мишина А.И., Скирда Т.А., Kaythy H. Серотипы и субтипы *Neisseria meningitidis*, циркулирующих среди бактерионосителей в Москве (1989 – 1991). *Журн. микробиол.* 1994: 44 – 48.

34. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Менингококковое носительство: загадки и разгадки. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2009; (1): 30 – 34.
35. Миронов К.О. Платонов А.Е., Королева И.С., Тагаченкова И.Ф., Браславская С.И., Шипулин Г.А. Генетическая характеристика московских штаммов *Neisseria meningitidis*. Клин. микробиол. антимикр. терапия, 2011; 13 (2): 135 – 148.
36. Josef B., Schneiker-Bekel S., Schramm-Gluck A., Blom J., Claus H., Linke B. et al. Comparative genome biology of a serogroup B carriage and disease strains supports a polygenic nature of meningococcal virulence. J. Bacteriol. 2010; 192 (20): 5363 – 5377.
37. Clonal complex designation. Доступно на: <http://pubmlst.org/neisseria/info/complexes.shtml>
38. Holmes E.C., Urvin R., Maiden M.C.J. The influence of recombination on the population structure and evolution of the human pathogen *Neisseria meningitidis*. Mol. Biol. Evol. 1999; 16 (6): 741 – 749.
39. Weiland N.J., Wertheimer A.M., Hobbs Th.R., Sisko L., Taky N., Gregson L.D., Clary S. *Neisseria* infection of rhesus macaques as a model to study colonization, transmission, persistence and horizontal gene transfer. PNAS. 2013; 110 (8): 3059 – 3064.
40. Yi K., Stephens D., Stojiljkovic J. Development and evaluation of an improved mouse model of meningococcal colonization. Infect. Immun. 2003; 71 (4): 1849 – 1855.
41. Johsrich K.O., McCaw S.E., Islam E., Sintsova A., Gu A., Shively J.E., Gray-Owen S.D. In vitro adaptation and persistence of *Neisseria meningitidis* within the nasopharyngeal mucosa. PLOS Pathogens. 2013; 9 (7): e1003509.
42. Exley K.M., Sim R., Goodwin L., Winterbotham M., Schneider M.C., Read R.C., Tang Ch.M. Identification of meningococcal genes for colonization of human upper airway tissue. Infect. Immun. 77 (1): 45 – 51.
43. Hey A., Li M.Sh., Hudson M.J., Langford P.R., Kroll J.S. Transcriptional profiling of *Neisseria meningitidis* interacting with human epithelium cells in a long-term in vitro colonization model. Infect. Immun. 2013; 81 (11): 4149 – 4159.
44. Goldschneider J., Gotschlich E.C., Artenstein M.S. Human immunity to meningococcus. I. The role of humoral antibodies. J. Exper. Med. 1969; 129: 1307 – 1326.
45. Jarvis G.A. Recognition and control of neisserial infections by antibody and complement. Trends Microbiol. 1995; 3: 198 – 201.
46. Johsrich K.O., McCaw S.E., Strobel L., Frosch M., Gray-Owen S.D. Sterilizing immunity elicited by *Neisseria meningitidis* carriage shows broader protection than predicted by serum antibody-cross reactivity in CEACAM-humanized mice. Infect. Immun. 2015; 83 (2): 354 – 363.
47. Guttormsen H.-K., Wetzler L.M., Solberg C.O. Humoral immune response to class1 outer membrane protein during the course of meningococcal disease. Infect. Immun. 1994; 62 (4): 1437 – 1443.
48. Williams J.N., Jones G.R., M., Christodoulides M., Heckels J. Serological correlates of protection against meningococci in a cohort of university students, before and during an outbreak of serogroup B infection. J. Infect. Dis. 2003; 187: 1433 – 1441.
49. Neal K.R., Nguen-Van-Tam J.S., Slack R.C.B., Kaczmarek E.B., White A., Ala'Aldeen D.A.A. Seven week interval between acquisition of a meningococcus and the onset of invasive disease. Epidemiol. Infect. 1999; 123: 507 – 509.
50. Kristiansen D.-E., Lind K.W., Mevold K., Sørensen B., Frøholm L.O., Bryn K. et al. Meningococcal phenotyping and genotyping characteristics and human antibody. J.Clin.Microbiol. 1888; 26 (10): 1988 – 1992.
51. Zorani A.A., Stewart J., Blackwell C.C., Elton R.A., Weir D.M. Inhibitory effect of saliva from secretors and nonsecretors on binding of meningococci to epithelial cells. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1994; 9 (2): 135 – 142.
52. Davenport V., Guthrie T., Findlow J., Borrow R., Williams N.A., Heyderman R.S. Evidence for naturally acquired T cell-mediated mucosal immunity to *Neisseria meningitidis* by *Neisseria meningitidis*. J. Immunol. 2003; 171: 4263 – 4270.
53. Borrow R., Fox A.J., Cartwright K., Begg N.N., Jones D.M. Salivary antibodies following parenteral immunization of infants with a meningococcal serogroup A and C conjugated vaccine. Epidemiol. Infect. 1999; 123: 201 – 208.
54. Davenport V., Groves E., Horton R.E., Hobbs C.D., Guthrie T., Findlow J., et al. Mucosal immunity in healthy adults after parenteral vaccination with outer membrane vesicles from *Neisseria meningitidis* serogroup B. J.Infect. Dis., 2008; 19 (5): 731 – 740.
55. Zang Q., Finn A. Mucosal immunology of vaccines against pathogenic nasopharyngeal bacteria. J.Clin. Pathol. 2004; 57 (10): 1015 – 1025.
56. Woodhams K.L., Chan J.M., Lenz D., Hackett K.F., Dullard J. Peptidoglycan fragment release from *Neisseria meningitidis*. Infect. Immun., 2013; 81 (9): 3490 – 3498.
57. Sjolinder H., Eriksson J., Maudsdotter L., Aro H., Jonsson A.-B. Meningococcal outer membrane protein NnhA is essential for colonization and disease by preventing phagocytosis and complement attack. Infect. Immun. 2008; 76 (11): 5412 – 5420.
58. Wang X., Sjolinder M., Gao Y., Sjolinder H. Immune homeostatic macrophages programmed by the bacterial surface protein NnhA potentiate nasopharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis*. mBio 2016; 7 iss. 1: e01670 – 15.
59. Almaro M., Bidmos F.A., Chan H., Oldfield N., Newton E., Bai X. et al. Phase variation mediates reduction in expression of surface proteins during persistent meningococcal carriage. Infect. Immun. 2014; 82 (6): 2472 – 2484.
60. Arenas J., Nijland R., Rodríguez F.J., Rosma T.N.R., Tomassen J. Involvement of three meningococcal surface-exposed proteins, the heparin-binding NnhA, the α -peptide of IgA protease and the autotransporter protease NalP, in initiation of biofilm formation. Mol. Microbiol. 2013; 87 (2): 254 – 268.
61. Королева М.А., Королева И.С., Закроева И.М., Грубер И.М. Динамика чувствительности к антибактериальным препаратам московских инвазивных штаммов *Neisseria meningitidis* в 2006 – 2015 годы. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 15 (3): 7 – 16.
62. Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика менингококковой инфекции». СП 3.1.2.2512-09.
63. Maiden M.C.J., Frosch M. Can we, should we eradicate the meningococcus? Vaccine. 2012; 30 (6): 652 – 656.

Reference

1. Koroleva I.S., Koroleva M.A., Beloshitsky G.V. The modern epidemiological state of meningococcal infection in Russian Federation and vaccination possibilities. Med. Almanah, Epidemiology and Hygiene. 2016; 15 – 17 (in Russian).
2. Caugant D.A., Maiden M.C.J. Meningococcal carriage and disease – population biology and evolution. Vaccine. 2009; 27 (4): B64 – B70.
3. Horton R.E., Stuart H., Christensen H., Borrow R., Guthrie T., Davenport V. et al. Influence of age and carriage status on salivary IgA to *Neisseria meningitidis*. Epidemiol. Infect. 2005; 133: 883 – 889.
4. Caugant D.A., Hoiby E.A., Magnus P., Scheel O., Hoel F., Bjuna G. et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in randomly sampled population. J. Clin. Microbiol. 1994; 32 (2): 323 – 330.
5. Stephens D. Onlooking the meningococci: dynamics of carriage and disease. Lancet, 1999, 353: 941 – 942.
6. Neal K.R., Nguen-Van-Tam S., Jeffrey N., Black R.C.B., Madely R., Ait-Tahar K. et al. Changing carriage rate of *Neisseria meningitidis* among university students during the first week of term: cross-sectional study. Brit. Med. J., 2000, 320: 846 – 849.
7. Trotter C.L., Gay N.J., Edmunds W.J. The natural history of meningococcal carriage and disease. Epidemiol. Infect. 2006; 134: 556 – 566.
8. Claus H., Maiden M.C.J., Wilson D.J., McCarthy N.G., Jolley K.A., Urvin R. et al. Genetic analysis of meningococci, carried by children and young adults. J.Infect. Dis., 2005; 191: 1263 – 1271.
9. Sim R.J., Harrison M.M., Moxon E.R., Tang C.M. Underestimation of meningococcus in tonsillar tissue by nasopharyngeal swabbing. Lancet, 2000, 326, iss. 9242: 1653 – 1654.
10. Caugant D.A., Tsanaki G., Kriz P. Lessons from meningococcal carriage studies. FEMS Microbiol. Rev. 2007; 31: 52 – 63.
11. Lappan M., Vogel U. Biofilm formation by the human pathogen *Neisseria meningitidis*. Med. Microbiol., Immunol. 2010; 199: 173 – 183.
12. Pokrovsky V.I., Favorova L.A., Kostyukova N.N. Meningococcal infection. Publ. house of Medicine. 1976 (in Russian).
13. Mildzikhova I.B. Epidemiological and microbiological characteristics of meningococcal carriage during the low morbidity period. Doctorate of med. sci. diss. Moscow; 1994 (in Russian).
14. Maxina T.A. Epidemiological significance of meningococcal carriers in the meningococcal foci. Doctorate of med. sci. diss. Moccow; 2011 (in Russian).
15. Jordens J.Z., Williams J.N., Jones G.R., Christodoulides M., Heckels J.E. Development of immunity to serogroup B meningococci during carriage *Neisseria meningitidis* in a cohort of university students. Infect. Immun. 2004; 72: 6503 – 6510.
16. Yarzdarkhan S.P., Caugant D.A. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carrier state. J. Med. Microbiol. 2004; 53: 821 – 832.
17. Jones G.R., Christodoulides M., Brooks J.L., Miller A.R.O., Cartwright K.A.V., Heckels J.E. Dynamics of carriage in a group of military recruits: subtype stability and specificity of immune response, following colonization. J. Infect. Dis., 1998, 178: 451 – 459.
18. Robinson K., Neal K.R., Howard C., Stockton J., Atkinson K., Searth E., et al. Characterization of humoral and cellular immune response elicited by meningococcal carriage. Infect. Immun. 2002; 70: 1301 – 1309.
19. Bidmos F.A., Neal K.R., Oldfield N.J., Turner D.P.J., Ala'Aldeen D.A.A., Bayliss Ch. Persistence, replacement and rapid clonal expansion of meningococcal carriage isolates in 2008 university students cohort. J.Clin.Microbiol. 2011; 49 (2): 506 – 512.
20. Mulhall R.M., Brehony C., O'Connor L., Meiler K., Jolley K.A., Bray J. et al. Resolution of a protected serogroup B meningococcal outbreak with whole genome sequencing shows interspecies genetic transfer. J. Clin. Microbiol. 2016; 54 (12): 2891 – 2898.

21. Dudareva V.V. Epidemiological characteristics of meningococcal infection in Leningrad. Doctorate of med.sci. diss., Leningrad, 1974 (in Russian).
22. Favorova L.A., Genchikov L.A. The prevalence of meningococcal carriage, Zh. Microbiol. (Moscow) [Journ. microbiol.]. 1966; 9: 25 – 29 (in Russian).
23. Christensen H., May M., Bowen J., Hickman M., Trotter C.L. Meningococcal carriage by age: a systematic review. Lancet Infect. Dis. 2010; 10 (12): 853 – 861.
24. Glitza I.C., Miller-Pebody B., Reintjes R., Breuer T., Ammon A., Sonntag H.G. Longitudinal study of meningococcal carrier rate in teenagers. Int. J. Hyg. Environ Health. 2008; 211 (3 – 4): 263 – 272.
25. Kostyukova N.N., Alexeev A.B., Gorlina M.Ch., Mironova T.K., Klitsunova N.V., Gorokhova L.V., Gosteva V.V. A study on meningococcal colonization of epithelium. In: Neisseria 1990, ed. M. Achtman et al. Walter de Gruyter. Berlin New-York 1991: 609 – 6114.
26. Mironov K.O., Tagatchenkova T.A., Koroleva I.S., Platonov A.E., Shipulin G.A. Genetic characteristics of *Neisseria meningitidis* strains obtained from healthy carriers during meningococcal outbreaks. Zh. Microbiol. [Journ. Microbiol.], 2011; 2: 22 – 27 (in Russian).
27. Ala'Aldeen D.A.A., Neal K.R., Ait-Tahar K., Nguen-van-Tam J.S., English A., Falla T.J. et al. Dynamics of meningococcal long-time carriage among university students and their implication for mass vaccination. J. Clin. Microbiol. 2000; 36 (6): 2311 – 2316.
28. Claus H., Maiden V.C.J., Maag K., Frosh M., Vogel H. Many carried meningococci lack the genes required for capsule synthesis and transport. Med. Microbiol. 2002; 148, iss. 6: 1813 – 1819.
29. Tsai C.-M., Frash C.E., Maag K., Vogel H., Structural classes of major outer membrane proteins in *Neisseria meningitidis*. J. Bacteriol. 1981; 146, (4): 169 – 178.
30. Kostyukova N.N., Bekhalo B.A. Current meningococcal vaccines: Advantages and disadvantages and new challenges. Epidemiologia i vakzinoprofilaktika [Epidemiologia and vaccinal prevention]. 2016; (4): 64 – 73 (in Russian).
31. Neil R.V., Apicella M.A. Clinical and laboratory evidence for *Neisseria meningitidis* biofilms. Future Microbiol. 2009; 4: 555 – 563.
32. Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Bacterial biofilms as a natural form of existence of bacteria in the environment and host organism. Zhurn. Mikrobiol. Moscow. [Journ. Microbiol.]. 2011; (3): 99 – 109 (in Russian)
33. Gorlina M.Ch., Kostyukova N.N., Mildzhikova I., Chernysheva T.F., Mishina A.I., Skirda T.A., Kaythy H. Serotypes and subtypes of *Neisseria meningitidis*, circulating among carriers in Moscow (1989 – 1991). Zhurn. Mikrobiol [Journ. Microbiol.]. Prilozhenie [Supplement], 1994: 44 – 48 (in Russian).
34. Kostyukova N.N., Bekhalo B.A. Meningococcal carriage: riddles and clues. Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktualnye voprosy, [Epidemiology and infectious diseases. Actual questions]. 2009; (1): 30 – 33 (in Russian).
35. Mironov K.O., Platonov A.E., Korolyova I.S., Tagatchenkova T.A., Braslavskaya S.I., Shipulin G.A. Genetic characteristics of *Neisseria meningitidis* strains in Moscow. Klin. Mikrobiol. Antimikrob. Terapiya [Clin. Microbiol. Antimicrob. Therapy]. 2011; 13 (2): 135 – 148 (in Russian).
36. Josef B., Schneiker-Bekel S., Schramm-Gluck A., Blom J., Claus H. Linke B. et al. Comparative genome biology of a serogroup B carriage and disease strains supports a polygenic nature of meningococcal virulence. J. Bacteriol. 2010; 192 (20): 5363 – 5377.
37. Clonal complex designation. Available at: <http://pubmlst.org/neisseria/info/complexes.shtml>
38. Holmes E.C., Urvin R., Maiden M.C.J. The influence of recombination on the population structure and evolution of the human pathogen *Neisseria meningitidis*. Mol. Biol. Evol. 1999; 16 (6): 741 – 749.
39. Weiland N.J., Wertheimer A.M., Hobbs Th.R., Sisko L., Taky N., Gregson L.D., Clary S. *Neisseria* infection of rhesus macaques as a model to study colonization, transmission, persistence and horizontal gene transfer. PNAS. 2013; 110 (8): 3059 – 3064.
40. Yi K., Stephens D., Stojiljkovic J. Development and evaluation of an improved mouse model of meningococcal colonization. Infect. Immun. 2003; 71 (4): 1849 – 1855.
41. Johswich K.O., McCaw S.E., Islam E., Sintsova A., Gu A., Shively J.E., Gray-Owen S.D. In vitro adaptation and persistence of *Neisseria meningitidis* within the nasopharyngeal mucosa. PLOS Pathogens. 2013; 9 (7): e1003509.
42. Exley K.M., Sim R., Goodwin L., Winterbotham M., Schneider M.C., Read R.C., Tang Ch.M. Identification of meningococcal genes for colonization of human upper airway tissue. Infect. Immun. 77 (1): 45 – 51.
43. Hey A., Li M.Sh., Hudson M.J., Langford P.R., Kroll J.S. Transcriptional profiling of *Neisseria meningitidis* interacting with human epithelium cells in a long-term in vitro colonization model. Infect. Immun. 2013; 81 (11): 4149 – 4159.
44. Goldschneider J., Gotschlich E.C., Artenstein M.S. Human immunity to meningococcus. I. The role of humoral antibodies. J. Exper. Med. 1969; 129: 1307 – 1326.
45. Jarvis G.A. Recognition and control of neisserial infections by antibody and complement. Trends Microbiol. 1995; 3: 198 – 201.
46. Johswich K.O., McCaw S.E., Strobel L., Frosch M., Gray-Owen S.D. Sterilizing immunity elicited by *Neisseria meningitidis* carriage shows broader protection than predicted by serum antibody-cross reactivity in CEACAM-humanized mice. Infect. Immun. 2015; 83 (2): 354 – 363.
47. Guttormsen H.-K., Wetzel L.M., Solberg C.O. Humoral immune response to class1 outer membrane protein during the course of meningococcal disease. Infect. Immun. 1994; 62; (4): 1437 – 1443.
48. Williams J.N., Jones G.R., M., Christodoulides M., Heckels J. Serological correlates of protection against meningococci in a cohort of university students, before and during an outbreak of serogroup B infection. J. Infect. Dis. 2003; 187: 1433 – 1441.
49. Neal K.R., Nguen-Van-Tam J.S., Slack R.C.B., Kaczmarek E.B., White A., Ala'Aldeen D.A.A. Seven week interval between acquisition of a meningococcus and the onset of invasive disease. Epidemiol. Infect. 1999; 123: 507 – 509.
50. Kristiansen D.-E., Lind K.W., Mevold K., Sorensen B., Frholm L.O., Bryn K. et al. Meningococcal phenotyping and genotyping characteristics and human antibody. J.Clin.Microbiol. 1988; 26 (10): 1988 – 1992.
51. Zorghi A.A., Stewart J., Blackwall C.C., Elton R.A., Weir D.M. Inhibitory effect of saliva from secretors and nonsecretors on binding of meningococci to epithelial cells. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1994; 9 (2): 135 – 142.
52. Davenport V., Guthrie T., Findlow J., Borrow R., Williams N.A., Heyderman R.S. Evidence for naturally acquired T cell-mediated mucosal immunity to *Neisseria meningitidis* by *Neisseria meningitidis*. J. Immunol. 2003; 171: 4263 – 4270.
53. Borrow R., Fox A.J., Cartwright K., Begg N.N., Jones D.M. Salivary antibodies following parenteral immunization of infants with a meningococcal serogroup A and C conjugated vaccine. Epidemiol. Infect. 1999; 123: 201 – 208.
54. Davenport V., Groves E., Horton R.E., Hobbs C.D., Guthrie T., Findlow J., et al. Mucosal immunity in healthy adults after parenteral vaccination with outer membrane vesicles from *Neisseria meningitidis* serogroup B. J.Infect. Dis., 2008; 19 (5): 731 – 740.
55. Zang Q., Finn A. Mucosal immunology of vaccines against pathogenic nasopharyngeal bacteria. J.Clin. Pathol. 2004; 57 (10): 1015 – 1025.
56. Woodhams K.L., Chan J.M., Lenz D., Hackett K.F., Dullard J. Peptidoglycan fragment release from *Neisseria meningitidis*. Infect. Immun., 2013; 81 (9): 3490 – 3498.
57. Sjolinder H., Eriksson J., Maudsdotter L., Aro H., Jonsson A.-B. Meningococcal outer membrane protein NnhA is essential for colonization and disease by preventing phagocytosis and complement attack. Infect. Immun. 2008; 76 (11): 5412 – 5420.
58. Wang X., Sjolinder M., Gao Y., Sjolinder H. Immune homeostatic macrophages programmed by the bacterial surface protein NhhA potentiate nasopharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis*. mBio 2016; 7 iss. 1: e01670 – 15.
59. Almaro M., Bidmos F.A., Chan H., Oldfield N., Newton E., Bai X. et al. Phase variation mediates reduction in expression of surface proteins during persistent meningococcal carriage. Infect. Immun. 2014; 82 (6): 2472 – 2484.
60. Arenas J., Nijland R., Rodrigues F.J., Rosma T.N.R., Tomassen J. Involvement of three meningococcal surface-exposed proteins, the heparin-binding NhhA, the α -peptide of IgA protease and the autotransporter protease NalP, in initiation of biofilm formation. Mol. Microbiol. 2013; 87 (2): 254 – 268.
61. Koroleva M.A., Koroleva I.A., Sakroeva I.M., Gruber I.M. The susceptibility of meningococci to the antimicrobial agents in Moscow, 2006 – 2015. Epidemiologia i vakzinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccine Prevention]. 2016; 15 (3): 7 – 16 (in Russian).
62. Sanitary-epidemiological rules «Prevention of meningococcal infection». SR 3.1.2.2512-09.
63. Maiden M.C.J., Frosch M. Can we, should we eradicate the meningococcus? Vaccine, 2012, 30 (6): 652 – 656.