

М.А. Лазарева¹, Т.В. Куличенко^{1, 2}, Н.М. Алябьева¹, О.А. Пономаренко¹, А.В. Лазарева¹, Л.К. Катосова¹, Н.А. Маянский^{1, 2}

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

Носоглоточное носительство *Streptococcus pneumoniae* у воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет

Контактная информация:

Куличенко Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая отделением неотложной педиатрии Научного центра здоровья детей, доцент кафедры клинической аллергологии и иммунологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-30-83, e-mail: tkulichenko@yandex.ru

Статья поступила: 20.04.2015 г., принята к печати: 27.04.2015 г.

Носоглоточная колонизация *Streptococcus pneumoniae* является источником развития мукозальных респираторных и инвазивных инфекций. Для эффективной вакцинопрофилактики этих заболеваний необходим национальный мониторинг циркулирующих серотипов и антимикробной резистентности *S. pneumoniae*. **Цель исследования:** проанализировать серотиповое разнообразие и антимикробную резистентность *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве у детей в возрасте до 5 лет. **Методы:** в исследование были включены воспитанники детского дома, детских садов и дети, не посещающие детские дошкольные учреждения (неорганизованные дети) без респираторных инфекций и не получающие антибактериальную терапию. Проведены микробиологический анализ назофарингеальной флоры, серотипирование выделенных штаммов пневмококка, оценена их чувствительность к антибиотикам. **Результаты:** носоглоточное носительство *S. pneumoniae* обнаружено у 23%, *Moraxella catarrhalis* — у 23%, *Haemophilus influenzae* — у 16% из 246 детей, включенных в исследование. Серотип был определен у 54 изолятов пневмококка: преобладали серотипы 19F (21%), 6B (15%), 23F (14%), 14 (8%). Совпадение полученного спектра с серотипами, входящими в состав пневмококковых конъюгированных вакцин ПКВ7 и ПКВ10, составило 81%, в ПКВ13 — 90%. Доля штаммов, нечувствительных к клиндамицину, составила 31%, к макролидам — 40%, к триметоприму/сульфаметоксазолу — 60%. Множественная устойчивость отмечена у 37% выявленных серотипов пневмококка. У эритромицинрезистентных штаммов резистентность была вызвана наличием *ermB*-гена (в 74% случаев) или *mef*-зависимым эффлюксом (9%) в качестве единственной детерминанты, в 17% случаев — их ассоциацией. Наибольшая резистентность к антибиотикам отмечена у пневмококков вакцинных серотипов. **Выводы:** сопоставление результатов исследования с ранее полученными данными свидетельствует о стабильности на протяжении последних десятилетий спектра циркулирующих пневмококков в российской популяции детей. Отмечено существенное нарастание резистентности пневмококка (особенно вакцинных серотипов) к антибиотикам пенициллинового ряда, макролидам, клиндамицину.

Ключевые слова: дети, *Streptococcus pneumoniae*, носоглоточное носительство, серотип, антибиотики, резистентность, пневмококковая конъюгированная вакцина.

(Для цитирования: Лазарева М. А., Куличенко Т. В., Алябьева Н. М., Пономаренко О. А., Лазарева А. В., Катосова Л. К., Маянский Н. А. Носоглоточное носительство *Streptococcus pneumoniae* у воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет. Вопросы современной педиатрии. 2015; 14 (2): 246–255. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1293)

M.A. Lazareva¹, T.V. Kulichenko^{1, 2}, N.M. Alyab'eva¹, O.A. Ponomarenko¹, A.V. Lazareva¹, L.K. Katosova¹, N.A. Mayanski^{1, 2}

¹ Scientific Centre of Children's Health, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Orphans, Preschool Children and Unorganized Children under 5 Years

Background: Nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae* is a source of respiratory mucosal and invasive infections. For effective vaccine prophylaxis of these diseases the national monitoring of the circulating serotypes and antimicrobial resistance of *S. pneumoniae* is required. **Objective:** To analyze serotype diversity and antimicrobial resistance of *S. pneumoniae* in the nasopharyngeal carriage in children under 5 years. **Methods:** The study included orphanage, nursery and children not attending preschool institutions (unorganized children) without respiratory infections and not receiving antibiotic therapy. Conducted microbiological analysis of nasopharyngeal flora, serotyping of pneumococcus, assess their sensitivity to antibiotics. **Results:** Nasopharyngeal carriage of *S. pneumoniae* was found in 23%, *Moraxella catarrhalis* — in 23%, *Haemophilus influenzae* — 16% of the 246 children included in the study. Serotype was determined in 54 pneumococcal isolates: predominant serotypes 19F (21%), 6B (15%), 23F (14%), 14 (8%). The coincidence of the spectrum obtained with serotypes members of the PCV7 pneumococcal conjugate vaccines and PKV10, was 81% in PKV13 — 90%. The proportion of strains sensitive to clindamycin, 31%, to macrolides — 40% to trimethoprim/sulfamethoxazole — 60%. Multiple resistance was observed in 37% of the identified pneumococcal serotypes. In erythromycin-resistant strains resistance was caused by the presence of *ermB*-gene (in 74% of cases) or *mef*-dependent efflux pump as the sole determinant (9%), in 17% of cases — with its association. Maximum antibiotic resistance is observed in pneumococcal vaccine serotypes. **Conclusion:** The results of the study comparing with previously obtained data shows stability over the past decades the spectrum of pneumococci circulating in the Russian population of children. A substantial increase in pneumococcal resistance to (especially vaccine serotypes) antibiotic penicillin, macrolides, clindamycin is observed.

Keywords: children, *Streptococcus pneumoniae*, nasopharyngeal carriage, serotype, antibiotic resistance, pneumococcal conjugate vaccine.

(For citation: Lazareva M. A., Kulichenko T. V., Alyab'eva N. M., Ponomarenko O. A., Lazareva A. V., Katosova L. K., Mayanski N. A. Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in orphans, preschool children and unorganized children under 5 years. Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2015; 14 (2): 246–255. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1293)

ОБОСНОВАНИЕ

Бессимптомная транзитная колонизация носоглотки условно-патогенными бактериями, такими как *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* и *Staphylococcus aureus*, является обычной у детей первых лет жизни; она снижается с возрастом в связи с созреванием иммунной системы [1, 2]. Носительство *S. pneumoniae*, по данным эпидемиологических исследований, варьирует в диапазоне 20–65% [3–5]. Назофарингеальная колонизация *H. influenzae* может достигать 90% у детей младше 5 лет [6, 7], тогда как носительство *S. aureus* встречается у 8–53% детей этой возрастной группы [8].

На частоту и продолжительность бессимптомного носоглоточного носительства у здоровых детей влияет множество факторов. В их числе возраст, географический регион проживания, сезон, большое число контактов с другими детьми, посещение детских дошкольных учреждений, бытовые условия, пассивное курение, частые респираторные инфекции и прием антибактериальных препаратов [9]. В определенных условиях эти колонизирующие носоглотку патогены могут стать причиной развития острых инфекций среднего уха, придаточных пазух носа и легких. В некоторых случаях эти же бактерии могут обуславливать развитие у детей тяжелых системных бактериальных инфекций [10]. Колонизация носоглотки условно-патогенной флорой рассматривается как особый фактор риска развития инфекционных болезней у детей с первичными иммунодефицитами, хроническими болезнями органов дыхания [11].

S. pneumoniae служит основным этиологическим фактором тяжелых инвазивных инфекций, таких как бактериемия и менингит, а также наиболее частым бактериальным возбудителем внебольничной пневмонии, острого среднего отита и синусита у детей во всем мире [12, 13]. Группой особого риска являются дети младшего возраста [14]. При этом дети раннего возраста могут быть носителями не менее двух, а некоторые — не менее четырех серотипов пневмококка одновременно [15]. Колонизация одним серотипом *S. pneumoniae* может продлиться от одного до нескольких месяцев, затем микроорганизм элиминируется, что не препятствует новой колонизации другим типом пневмококка.

Носоглоточную колонизацию *S. pneumoniae* рассматривают как основной резервуар инфекции и фактор ее распространения [16]. У здоровых детей назофарингеальное носительство пневмококка является предпосылкой для развития мукозальных респираторных или инвазивных инфекций. В контролируемых исследованиях показана ассоциация между высокой частотой колонизации носоглотки и заболеваемостью рентгенологически подтвержденной пневмонией [17], острым средним отитом [18].

Вакцинация детей в возрасте до 5 лет семивалентной пневмококковой конъюгированной вакциной (ПКВ7) привела к значительному снижению носоглоточного носительства вакцинных штаммов пневмококка и уменьшению (на 90%) частоты инвазивных пневмококковых инфекций, обусловленных вакцинными серотипами [19–21]. Однако вместе с этим повсеместно выросла частота носоглоточного носительства серотипов, не включенных в ПКВ7 [22, 23]. Появление в 2010 г. двух новых пневмококковых конъюгированных вакцин (ПКВ10 и ПКВ13)

имело целью создание иммунитета к большему числу значимых для развития инвазивных инфекций серотипов.

Поскольку носительство *S. pneumoniae* является основной предпосылкой к распространению пневмококковых болезней, необходимо динамическое наблюдение за спектром циркулирующих серотипов. Для оценки эффективности вакцинопрофилактики нужно учитывать соответствие их состава серотипам, циркулирующим в конкретной стране. Не менее важен мониторинг антимикробной резистентности *S. pneumoniae*. Эмпирическая антибактериальная терапия должна строго основываться на региональных данных о чувствительности микрофлоры. Необходимо также учитывать, что с начала 2000-х гг. международные программы по мониторингу антимикробной резистентности выявляют значительные возрастные различия с преобладанием у детей нечувствительных к некоторым классам антибиотиков пневмококков [24].

Целью настоящего исследования было изучение микробного спектра при носоглоточном носительстве у здоровых воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет с анализом серотипового разнообразия и антимикробной резистентности *S. pneumoniae*.

МЕТОДЫ

План (дизайн) исследования

Открытое сравнительное исследование.

Критерии соответствия

В исследование включали воспитанников детского дома, детских садов, детей, не посещающих детские дошкольные учреждения (неорганизованные дети) в возрасте до 5 лет без респираторных инфекций и не получающих антибактериальную терапию на момент осмотра или в течение недели, предшествовавшей осмотру.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе отделения неотложной педиатрии Научного центра здоровья детей (Москва), в поликлиниках ЮЗАО г. Москвы при профилактических осмотрах воспитанников детских садов и проведении диспансеризации в детском доме в ЮЗАО г. Москвы.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с февраля 2013 по февраль 2014 г.

Микробиологические исследования

Исследование микрофлоры носоглотки осуществляли рутинно, в процессе оториноларингологического осмотра при диспансеризации детей из детских садов и детского дома.

Назофарингеальные мазки собирали с помощью набора eSWABCollectionKit (CopanDiagnostics, Италия), состоящего из зонда и контейнера с транспортной средой. Образцы доставляли в лабораторию микробиологии Научного центра здоровья детей в течение 2–4 ч с момента взятия. У пациентов документировали возраст, вакцинальный статус, прием антибиотиков в течение последних 3 мес до взятия образца.

Для микробиологического анализа применяли расходные материалы и оборудование производства BioMerieux

(Франция). Посев биоматериала производили на питательный агар (Columbia, Bio-Rad, Франция) с добавлением 3% донорской эритроцитарной массы крови человека и 3% лошадиной сыворотки, а также на шоколадный агар, содержащий 10 мг/мл НАД, который добавляли в предварительно охлажденную до 50–60°C среду. Посевы инкубировали в термостате с повышенным содержанием CO₂ (5%) при температуре 37°C на протяжении 24–48 ч.

Значимыми условно-патогенными бактериями считали *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis* и *S. aureus* [11, 25, 26]. Идентификацию пневмококка проводили на основании морфологических и культуральных свойств, а также с помощью теста с оптохином и реакции латекс-агглютинации (SlidexPneumo-Kit, BioMerieux, Франция). Серологическое типирование *S. pneumoniae* осуществляли в реакции латексной агглютинации и/или реакции набухания капсулы по Нейфельду. Для этого использовали набор ImmuLexTMPneumotestkit (Statens Serum Institut, Дания). Нетипируемыми считали изоляты пневмококка, которые не агглютинировались ни одной из пуловых сывороток (пулы А-I и P-T). Выделенные культуры *H. influenzae* идентифицировали на основании изучения морфологии, культуральных свойств, потребности в факторах роста X и V, а также в системе API NH. β-Гемолитические стрептококки (*Streptococcus pyogenes*) дифференцировали по чувствительности к бацитрацину (Vasitracin, HiMedia, Индия) и методом латекс-агглютинации с реагентом Slidex Strepto Kit (BioMerieux, Франция). *M. catarrhalis* идентифицировали на основе окраски по Граму, положительной оксидазной реакции и характерного протеомного профиля, который определяли с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра (BrukerDaltonics, Германия; MALDI Biotyper).

Определение чувствительности к антибиотикам

Для определения чувствительности штаммов пневмококка к оксациллину, эритромицину, клиндамицину и триметоприму/сульфаметоксазолу (ТМП/СМЗ) использовали диско-диффузионный метод (диски Bio-Rad, США) на среде Мюллера–Хинтон с добавлением 5% крови человека. Результаты интерпретировали согласно рекомендациям МУК 4.2. 1890-04 [27]. Чувствительными к пенициллину считали штаммы с диаметром зоны подавления роста ≥ 20 мм для диска с оксациллином, ≥ 21 мм — для эритромицина, ≥ 19 — для клиндамицина и триметоприма/сульфаметоксазола. Для штаммов *S. pneumoniae* определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) пенициллина и амоксициллина методом Е-теста. Чувствительными считали изоляты с МПК ≤ 0,6 мг/мл, нечувствительными к пенициллину — штаммы с МПК ≥ 0,6 мг/мл [28].

Выделение ДНК из чистой культуры *S. pneumoniae* и детекцию генов резистентности к макролидам *ermB*

и *mef* у эритромицинрезистентных пневмококков проводили при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) описанными ранее методами [29].

Этическая экспертиза

Назофарингеальные мазки в отделении неотложной педиатрии Научного центра здоровья детей собирали при наличии информированного согласия родителей детей, обратившихся для профилактического осмотра педиатром. Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Научного центра здоровья детей 15.02.2013 г.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных осуществляли при помощи программы SPSS 20.0 (SPSS Statistics, США). Для сравнения распределения патогенов и серотипов *S. pneumoniae* использовали таблицы сопряженности, критерий χ^2 или точный тест Фишера. Для сравнения долей использовали Z-критерий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

Участниками исследования являлось организованное и неорганизованное детское население г. Москвы.

В исследование были включены 246 детей в возрасте до 5 лет, из них 76 не посещали детские дошкольные учреждения (неорганизованные дети), 144 ребенка посещали детский сад, 26 человек являлись воспитанниками детского дома (табл. 1). Вакцинопрофилактика гемофильной и пневмококковой инфекций у детей до включения в исследование не проводилась.

Спектр антибактериальных препаратов, полученных в предшествующие исследованию 3 мес в связи с перенесенными острыми респираторными заболеваниями, представлен в табл. 2. Большинство детей (23/51; 45%) лечились антибиотиками цефалоспоринового ряда, среди которых преобладали препараты III поколения. Макролиды составили 1/4 (13/51; 26%) в спектре назначений, при этом более чем в половине случаев рекомендовался азитромицин. Аминопенициллины получали 15/51 (29%) детей; предпочтение в этих случаях отдавалось амоксициллину/клавуланату.

Результаты микробиологического исследования

Всего было собрано 246 образцов микробиоты, при этом в 82/246 (33%) назофарингеальных мазках отмечен рост нормальной микрофлоры. Нормофлора была представлена преимущественно коагулазонегативными стафилококками, зелеными стрептококками, различными видами энтеробактерий. У детей, не посещавших дошкольные учреждения, нормальная микрофлора высевалась

Таблица 1. Характеристика детей, включенных в исследование

Показатели	Неорганизованные дети (n = 76)	Воспитанники детского сада (n = 144)	Воспитанники детского дома (n = 26)
Возраст, мес*	22 (14,5; 33,5)	43 (35; 50)	18,5 (12; 30)
Антибактериальная терапия, абс. (%)**	16 (21)	34 (24)	Нет данных

Примечание. * — данные представлены в виде Me (25; 75); ** — хотя бы 1 раз в течение 3 мес до включения в исследование.

Таблица 2. Антибактериальные препараты, назначаемые детям в предшествовавшие исследованию 3 мес

Антибактериальные препараты	Неорганизованные дети (n = 76)		Дети, посещающие детский сад (n = 144)		Всего (n = 220)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%*
Аминопенициллины	6	8	9	7	15	29
Амоксициллин	3	4	2	1	5	9,5
Амоксициллин/клавулановая кислота	3	4	7	5	10	19,5
Макролиды	3	4	10	7	13	26
Азитромицин	1	1,3	6	4	7	14
Кларитромицин	2	2,7	2	1	4	8
Джозамицин	0	0	2	1	2	4
Цефалоспорины	7	9	16	10	23	45
I поколение (цефазолин)	0	0	2	1	2	4
II поколение (цефуросим)	2	2,7	2	1	4	8
III поколение (цефтриаксон, цефиксим)	5	6,3	12	8	17	33

Примечание. * — доля каждого антибиотика в общей структуре назначений антибактериальной терапии.

Таблица 3. Микробный спектр при носоглоточном носительстве у детей в возрасте до 5 лет

Микрофлора	Неорганизованные дети (n = 76)		Дети, посещающие детский сад (n = 144)		Воспитанники детского дома (n = 26)		Всего штаммов
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>S. pneumoniae</i>	13	15*#	49	26	10	24	72
<i>H. influenzae</i>	6	7*#	34	18	11	27	51
<i>M. catarrhalis</i>	11	13*#	42	23#	18	44	71
<i>S. aureus</i>	15	18#	18	10#	2	5	35
Прочая	40	47*#	42	23#	0	0	82
Всего штаммов	85	100	185	100	41	100	311

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении с группой воспитанников детского сада; # — $p < 0,05$ при сравнении с группой воспитанников детского дома.

в 40/76 (52%) случаев, т.е. почти в 2 раза чаще, чем у детей из детских садов (42/144; 29%). Примечательно, что у детей из закрытого коллектива (детский дом) ни в одном случае не было выявлено роста потенциально непатогенной микрофлоры в отличие от детей из детских садов и неорганизованных детей (табл. 3).

Рост условно-патогенной микрофлоры наблюдали у 164/246 (67%) детей, включенных в исследование. Ни в одном образце не отмечено роста *S. pyogenes*. В назофарингеальных образцах 116/246 (47%) детей присутствовали различные патогены в виде монокультуры. Доля таких образцов во всех группах была сопоставимой и составила 31/76 (41%) у неорганизованных детей, 74/144 (51%) — у детей из детских садов и 11/26 (42%) — у детей из детского дома.

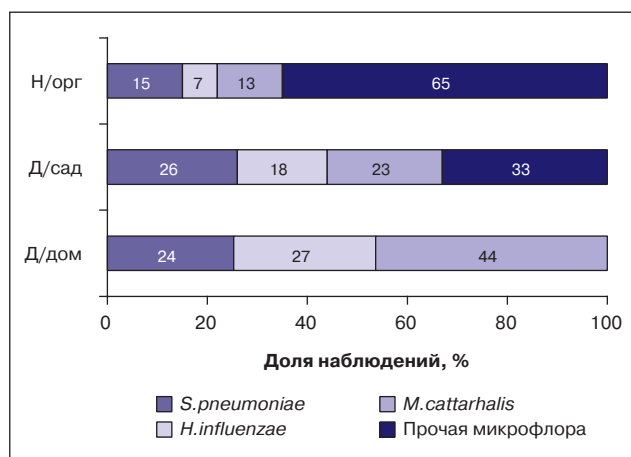
У 48 (20%) обследованных детей в назофарингеальных образцах зафиксирован одновременный рост 2 или 3 видов бактерий. Частота роста смешанной флоры была существенно ниже у неорганизованных детей (6/76; 8%) по сравнению с обследуемыми из детских садов (27/144; 19) и детьми из детского дома (15/26; 58%; $p < 0,01$). В целом, наиболее часто встречались ассоциации *S. pneumoniae* с *H. influenzae* ($n = 12$), *S. pneumoniae* с *M. catarrhalis* ($n = 12$), реже —

выявлялись *H. influenzae* и *M. catarrhalis* ($n = 7$), а также комбинация всех 3 патогенов ($n = 7$). В 10 случаях в комбинациях участвовал *S. aureus*.

Для сравнения доли бактерий в микробном спектре назофарингеальных образцов мы учитывали абсолютное число штаммов респираторных патогенов в положительных культурах (см. табл. 3). Всего было получено 311 изолятов различных микробов. Доля *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве составила 23% (72/311) и была выше, чем доля *H. influenzae* (16%; 51/311) и сопоставима с частотой выявления *M. catarrhalis* (23%; 71/311).

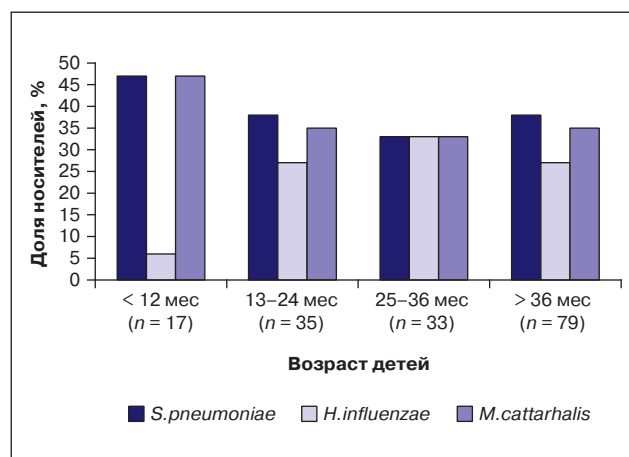
Частота выявления респираторных патогенов *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. catarrhalis* была существенно ниже в группе детей, не посещавших детские дошкольные учреждения, по сравнению с двумя другими группами обследованных носителей. *S. pneumoniae* высевался из носоглотки одинаково часто у воспитанников детского сада и детского дома. Доля *H. influenzae* и *M. catarrhalis* при этом была значимо выше в спектре носоглоточного носительства у детей из детского дома (рис. 1). Различия в спектре выявленных патогенов в зависимости от предшествующей антибактериальной терапии обследованных детей не обнаружены.

Рис. 1. Респираторные патогены в структуре микробного пейзажа носоглотки у обследованных детей



Примечание. Н/орг — неорганизованные дети (не посещают детский коллектив), Д/сад — дети, посещающие детский сад, Д/дом — воспитанники детского дома.

Рис. 2. Возрастные особенности носоглоточного носительства респираторных патогенов у детей в возрасте до 5 лет



Анализ возрастных особенностей носоглоточного носительства респираторных патогенов показал преобладание в спектре у детей первого года жизни *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis* (рис. 2). Доля всех 3 изучаемых патогенов у детей старше 12 мес существенно не различалась.

Серотиповое разнообразие *S. pneumoniae*

При исследовании носоглоточного носительства было выявлено 72 штамма *S. pneumoniae*, серотип был определен в 54 (75%) случаях. Остальные штаммы не сохранились

для типирования. Среди установленных серотипов преобладали 19F, 6B, 23F, 14, суммарная доля которых составила 78%. Совпадение спектра обнаруженных у детей серотипов с серотипами *S. pneumoniae*, входящими в состав 7-, 10- и 13-валентных пневмококковых конъюгированных вакцин, составило 81% для ПКВ7 и ПКВ10, 90% — для ПКВ13 (табл. 4). Наиболее часто выявлялся вариант 19F, его доля в серотиповом спектре составила 28%.

Спектр выделенных серотипов пневмококка в обследованных группах детей существенно различался. В частности, наибольшее серотиповое разнообразие

Таблица 4. Серотипы *S. pneumoniae* при назофарингеальном носительстве у детей в возрасте до 5 лет

Серотип	n	% от общего числа штаммов	Накопленный %
Входящие в ПКВ7, ПКВ10			
19F	15	21	28
6B	11	15	48
23F	10	14	67
14	6	8	78
9V	2	3	81
Дополнительные для ПКВ13			
6A	3	4	87
3	2	3	90
Не входящие в ПКВ13			
23A	1	1,4	92
11A	1	1,4	94
8	1	1,4	96
35F	1	1,4	98
16F	1	1,4	100
Все типированные	54	75	-
Нетипируемые	0	0	-
Не типировали	18	25	-
Всего:	72	100	-

Рис. 3. Носоглоточное носительство различных серотипов *S. pneumoniae* в обследованных группах

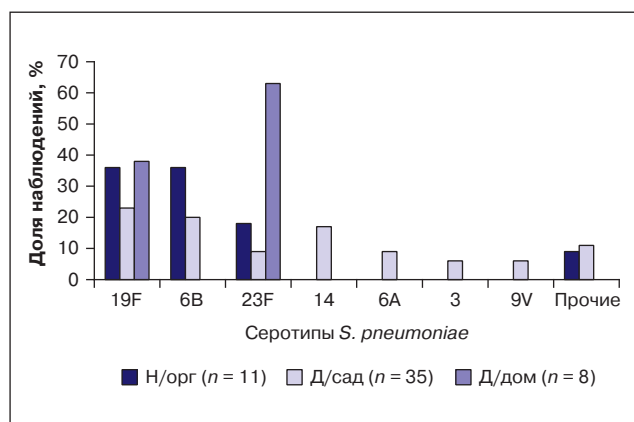
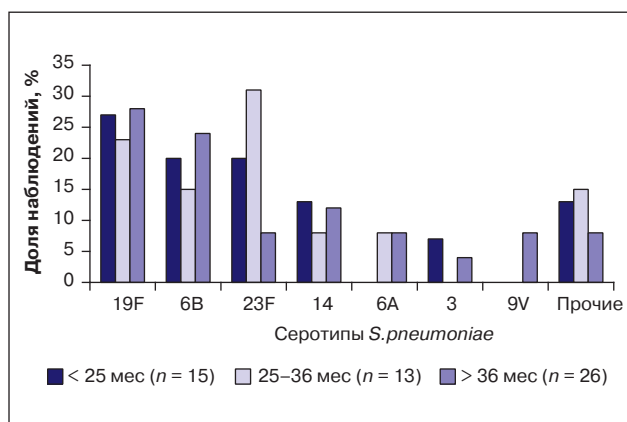


Рис. 4. Носоглоточное носительство различных серотипов *S. pneumoniae* у детей разного возраста



S. pneumoniae было обнаружено у детей, посещавших детский сад (рис. 3). У воспитанников детского дома (учреждение закрытого типа) было выявлено всего 2 серотипа пневмококка — 19F и 23F.

Анализ серотипового разнообразия у детей разных возрастов показал, что в возрасте до 2 лет жизни преобладал серотип 19F, часто встречались серотипы 6B, 23F и 14 (рис. 4). У детей 3-го года жизни наиболее часто встречался серотип 23F (> 30%), далее — 19F и 6B. В возрасте от 3 до 5 лет частыми серотипами были 19F, 6B, 14.

Антибиотикорезистентность штаммов *S. pneumoniae*

Чувствительность к антибиотикам была протестирована у 67 штаммов *S. pneumoniae*. В панель исследованных антибиотиков вошли β-лактамы (оксациллин, пенициллин, амоксициллин), макролиды (эритромицин, азитромицин, кларитромицин, спирамицин), клиндамицин и ТМП/СМЗ. Резистентность исследуемых штаммов пневмококка к различным группам антибиотиков варьировала от 31 до 60%. Наибольшая устойчивость была отмечена к ТМП/СМЗ (табл. 5).

Резистентностью к оксацилину обладали 32/67 (48%) изолятов пневмококка. Последующий анализ с использованием E-теста показал, что все оксациллинрезистентные пневмококки были нечувствительны к пенициллину (МПК > 0,06 мкг/мл; см. табл. 5). Доля нечувствительных к пенициллину штаммов составила 48%. МПК пенициллина ≥ 2 мкг/мл наблюдали у 5/67 (7%) штаммов.

МПК амоксициллина была определена для всех 32 оксациллинрезистентных изолятов. Для 19/32 (60%) исследованных штаммов МПК амоксициллина составила ≤ 0,5 мкг/мл, у 2 штаммов МПК составила 1 мкг/мл, у 5 изолятов — 2 мкг/мл. При этом сниженной чувствительностью/резистентностью к амоксициллину (МПК > 2 мкг/мл) обладали 6 изолятов (9%), 4 из которых относились к серотипу 19F, 1 — к серотипу 14, и серотип еще 1 штамма был неизвестен. Ни одного амоксициллинрезистентного штамма пневмококка не было выявлено среди невакцинных штаммов.

Уровень резистентности исследованных штаммов пневмококка к макролидным антибиотикам достигал 40% (см. табл. 5). Для 14- и 15-членных макролидов (эритромицин, азитромицин, кларитромицин) он не различал-

Таблица 5. Устойчивость штаммов *S. pneumoniae* к антибиотикам

Серотип	n	Нечувствительные штаммы, n								
		ПЕН	АМО	ЭРИ	АЗИ	КЛА	СПИ	ТМП / СМЗ	КЛИ	МУ*
19F	15	13	4	9	9	9	9	12	9	8
6B	11	4	0	7	7	6	6	8	6	6
23F	10	4	0	2	2	1	0	8	0	2
14	6	5	1	5	5	5	5	4	3	5
6A	3	0	0	0	0	0	0	3	0	0
3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9V	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Прочие*	18	6	1	4	4	5	1	5	3	4
Все серотипы:	67 (100%)	32 (48%)**	6 (9%***)	27 (40%)	27 (40%)	26 (39%)	21 (31%)	40 (60%)	21 (31%)	25 (37%)

Примечание. ПЕН — пенициллин; АМО — амоксициллин; ЭРИ — эритромицин; АЗИ — азитромицин, КЛА — кларитромицин, СПИ — спирамицин, ТМП/СМЗ — триметоприм / сульфаметоксазол, КЛИ — клиндамицин, МУ — множественная устойчивость (устойчивость к трем или более группам антибиотиков). *Прочие серотипы (n = 18): 23A, 11A, 8, 35F, 16F (по 1 каждого), а также нетипированные. ** МПК к пенициллину была исследована у всех оксациллинрезистентных штаммов (n = 32), для всех МПК пенициллина составила > 0,06 мкг/мл. *** МПК амоксициллина у 6 оксациллинрезистентных штаммов составила > 2 мкг/мл.

ся, что было обусловлено едиными для всех антибиотиков этой группы механизмами антимикробной устойчивости. Обращает на себя внимание то, что резистентность к 16-членному макролиду спирамицину, согласно результатам нашего исследования, также превышает 30%, что свидетельствует о нецелесообразности рутинного использования любых макролидов для лечения пневмококковых инфекций.

Анализ молекулярных механизмов устойчивости к макролидам

Для уточнения механизмов резистентности к макролидам у 23 из 27 макролидрезистентных изолятов при помощи ПЦР проведено исследование генов *ermB* и *mef*. Основным молекулярным механизмом, обуславливающим резистентность к макролидам за счет модификации мишени и невозможности связывания антибиотика с рибосомой, является наличие у пневмококка гена *ermB*. Носителями гена *ermB* были более 90% (21/23) эритромицинрезистентных штаммов, что определяло их MLSB-фенотип, т.е. одновременную устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам, стрептограмину В. В качестве единственной детерминанты ген *ermB* встречался у 17/23 (74%) штаммов, в сочетании с геном эффлюкса *mef* — в 4/23 (17%) исследованных образцах. Только 2 из 23 эритромицинрезистентных штаммов имели 1 ген *mef*. Большинство макролидрезистентных штаммов (21/27) обладали также устойчивостью к клиндамицину. В целом уровень резистентности к макролидам и клиндамицину был сходным (40%; 27/67 и 31%; 21/67, соответственно).

Наибольшая устойчивость к антибиотикам была свойственна штаммам, относившимся к серотипу 19F. Уровень нечувствительности пневмококков этого серотипа к пенициллину превышал 85% (13/15), к ТМП/СМЗ — 80% (12/15), а к макролидам и клиндамицину он составил 60% (9/15). Более 80% пневмококков серотипа 14 были нечувствительны к пенициллину, макролидам, клиндамицину и ТМП/СМЗ. Выявленный в нашем исследовании сравнительно высокий уровень нечувствительности к амоксициллину обусловил изоляты, относящиеся к двум серотипам — 19F и 14. К высокорезистентным следует отнести также пневмококки серотипа 6B, устойчивость к макролидам выявлена у 7/11 (64%), а к клиндамицину — у 6/11 (55%) штаммов, относившихся к этому серотипу.

Следует отметить, что наибольшая резистентность отмечена у пневмококков вакцинных серотипов (входящих в состав как ПКВ13, так и в состав ПКВ10): 19F, 23F, 14, 6B, 6A. Все штаммы серотипа 3 и серотипа 9V в нашем исследовании сохраняли чувствительность ко всем тестируемым антибиотикам.

Среди исследованных штаммов пневмококка множественной устойчивостью (т.е. устойчивостью к трем и более антибиотиков разных классов) обладали 37% (25/67) изолятов. Штаммы с множественной устойчивостью к антибиотикам относились к серотипам 19F, 14, 6B, 23F. Необходимо отметить, что все изоляты с высокой МПК к пенициллину (≥ 1 мкг/мл) и амоксициллину (≥ 1 мкг/мл) обладали множественной устойчивостью к антибиотикам.

Пневмококки с множественной устойчивостью чаще выявлялись у воспитанников детских учреждений (по 50%

в каждой группе) по сравнению с неорганизованными детьми (25%).

Вместе с тем не выявлено связи с глоточным носительством штаммов с множественной устойчивостью у детей с недавней предшествующей антибиотикотерапией. Множественная устойчивость пневмококков выявлена у 3 из 11 детей, получавших антибиотики, и у 9 из 26 детей, не получавших их.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало высокую частоту носоглоточного носительства условно-патогенной микрофлоры у детей из закрытых (детский дом) и полузакрытых (детский сад) коллективов, что объясняется большим числом и плотностью контактов со сверстниками. Рост потенциально непатогенной флоры (условно нормофлоры) отмечен у 1/2 (52%) неорганизованных детей, у 1/3 (29%) детей из детских садов и ни у одного из воспитанников детского дома. Вместе с тем частота микробных ассоциаций значимых респираторных патогенов была существенно выше у детей из закрытого коллектива (58%), чем у детей из полузакрытого коллектива (19%) и неорганизованных детей (8%).

В целом частота носоглоточного носительства *S. pneumoniae* составила 23% и была выше, чем носительство *H. influenzae* (16%), и сопоставима с частотой выявления *M. catarrhalis* (23%). Полученные данные согласуются с результатами других исследований, проведенных в различные годы, которые показывают, что частота носительства пневмококка в российской популяции является стабильной в до- и послевакцинальную эпоху. Так, по данным литературы, распространенность носоглоточной колонизации пневмококком у детей в возрасте до 5 лет оценивается в диапазоне 23–56% [3–5].

Частота выявления респираторных патогенов *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. catarrhalis* в нашем исследовании была существенно ниже в группе детей, не посещающих детские дошкольные учреждения, по сравнению с группами сравнения. Эти факты свидетельствуют о более активном «обмене» респираторными патогенами между воспитанниками детских коллективов.

Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что пик пневмококкового носительства приходится на первые 3 года жизни [1, 7, 8]. Вместе с тем возраст, в котором наблюдается колонизация носоглотки *H. influenzae*, отличается более широким диапазоном встречаемости [6, 7]. Однако, в целом, носительство *S. pneumoniae* и *H. influenzae* уменьшается к подростковому возрасту. Колонизация носоглотки *S. aureus* наиболее распространена в периоде новорожденности и в возрасте 10 лет [1, 7].

В проведенном исследовании носоглоточное носительство *H. influenzae* отмечено у детей старше года, тогда как *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis* выявлялись в назофарингеальных мазках в большом количестве на протяжении всего раннего возраста. Ни в одном образце не был выявлен рост *S. pyogenes*, который является значимым патогеном у детей при бактериальных респираторных инфекциях, в частности при острых средних отитах, как это было показано в ранее выполненных исследованиях [25, 30]. Бессимптомное носительство β -гемолитического

стрептококка группы А распространено у детей старшего дошкольного возраста и школьников, в этом возрасте оно достигает 12% [31]. Напротив, в первые годы жизни фарингиты, обусловленные пиогенным стрептококком, возникают крайне редко. Вероятно, в этом возрасте этот патоген выступает как облигатный и выявляется только при острых инфекциях.

Мы не выявили зависимости микробного спектра у носителей от проводившейся в недавний период времени антимикробной терапии, что свидетельствует о быстрой колонизации носоглотки после проведения лечения антибиотиками. При этом плотность колонизации тесно связана с большим числом контактов и возможностью передачи респираторных патогенов у «коллективных» детей.

При исследовании серотипового спектра *S. pneumoniae* выявлено преобладание обычных, так называемых педиатрических, серотипов — 19F, 6B, 23F, 14, которые составили 78% распределения. Наиболее часто встречался серотип 19F, его доля в серотиповом спектре составила 28%. В исследованиях, проведенных в 2011–2013 гг. в Москве, у детей с острыми бактериальными респираторными инфекциями преобладающими серотипами как в назофарингеальных образцах, так и в жидкости среднего уха были 19F, 14, 23F, 3, 6A и 6B [25, 26, 30, 32]. В многоцентровом исследовании, проведенном в 2007–2009 гг. в 18 городах России, при исследовании 584 штаммов пневмококка, выделенных от детей в возрасте до 5 лет жизни с различными клиническими формами инфекции и носителей, было показано, что на долю серотипов *S. pneumoniae*, входящих в состав ПКВ13, приходится 81% штаммов [33]. Преобладающими при этом были перечисленные выше серотипы при лидирующей позиции 19-й серогруппы. Учитывая отсутствие массовой вакцинации от пневмококка в нашей стране¹, исследования, проведенные в Москве и Санкт-Петербурге с 2010 г., а также исследования 1990-х гг. показывают, что спектр серотипов *S. pneumoniae* у носителей остался стабильным. Серотипы пневмококка, выделенные из респираторного тракта больных острой внебольничной пневмонией, согласно российским исследованиям, как в 1990-х, так и в последние годы на 80% представлены одинаковой структурой, несколько различаясь в частоте отдельных штаммов в разные периоды [34–36]. Изменение спектра распространенных серотипов пневмококка можно ожидать при введении в России массовой вакцинации.

Данные об актуальных серотипах пневмококка, циркулирующих в России, важны для оценки эффективности ПКВ после ее введения в отечественный календарь иммунизации, поскольку позволяют оценить перекрытие серотипов существующими вакцинами. В стране, где была внедрена вакцинация ПКВ7, вакцинные штаммы пневмококка практически исчезли [37–39]. Наши результаты показывают совпадение спектра циркулирующих серотипов на 81% для ПКВ7 и ПКВ10 и на 90% — для ПКВ13. Похожие результаты были получены в других отечественных исследованиях. Так, по данным Р.С. Козлова и соавт., соответствие циркулирующих

неинвазивных серотипов составляло 80,4; 80,7 и 84,6% для 7-, 10- и 13-валентных пневмококковых конъюгированных вакцин, соответственно [33]. В исследовании, проведенном у детей с острыми отитами и пневмониями в Санкт-Петербурге, ожидаемая эффективность ПКВ7 оценена как 75%, а ПКВ13 — как 95% [36], что сопоставимо с данными, полученными в настоящем исследовании. Более того, ПКВ покрывают подавляющее большинство полирезистентных серотипов, обладающих полирезистентностью (ПКВ7 и ПКВ10 — на 88%, ПКВ13 — на 97%). С учетом того, что инвазивным пневмококковым инфекциям обязательно предшествует колонизация возбудителем нестерильных локусов, наши данные позволяют прогнозировать хорошую эффективность ПКВ в России.

Анализ антибиотикорезистентности заставляет серьезно задуматься о повседневной клинической практике назначения антибиотиков в Российской Федерации. Результаты нашего исследования демонстрируют существенное нарастание нечувствительности пневмококка к антибиотикам пенициллинового ряда, макролидам, клиндамицину даже по сравнению с данными собственных недавних исследований 2011–2013 гг. [32]. Доля устойчивости варьировала от 31% к клиндамицину до 60% к ТМП/СМЗ, при этом 37% исследованных пневмококков обладали множественной лекарственной устойчивостью.

Особых комментариев требует ситуация с резистентностью к макролидам. Все изоляты пневмококка, обладавшие множественной устойчивостью к антибиотикам, относились к вакцинным серотипам (входили в состав серотипов в ПКВ7, ПКВ10 и ПКВ13). Полирезистентными были все штаммы, нечувствительные к пенициллину и амоксициллину. В нашем исследовании показана сравнительно высокая нечувствительность к амоксициллину по сравнению с результатами, полученными в 2011–2013 гг. [32]. Нечувствительными к амоксициллину были изоляты, относившиеся к серотипам 19F и 14, при этом выявлены все они были у детей из разных детских коллективов.

У детей из детского дома было обнаружено всего 2 серотипа пневмококка (19F и 23F), все они были полирезистентными. В данном случае высока вероятность, что это эффект обмена патогенами между воспитанниками в закрытом коллективе.

Доля штаммов со сниженной чувствительностью или резистентностью к пенициллину составила 48% против 28 в 2011–2013 гг., к эритромицину были резистентны 40% изолятов против 26 в 2011–2013 гг. [32]. В более ранних исследованиях, проведенных в России в конце 1990-х и в 2001–2002 гг., распространенность резистентных штаммов при носоглоточном носительстве была значительно ниже [39, 40]. Доля пенициллин-резистентных штаммов *S. pneumoniae* была менее 10%, устойчивыми к макролидам были около 5% штаммов, а полирезистентность наблюдали только у 2% изолятов. Уровень резистентности к ТМП/СМЗ был сопоставим с таковым в наших наблюдениях (53–65%). Таким образом, в последние годы резистентность *S. pneumoniae*

¹ Вакцинопрофилактика пневмококковых инфекций была введена в Российский национальный календарь в 2014 г., массовая вакцинация фактически началась лишь с конца 2014 г.

существенно выросла. Этот результат совпадает с глобальной тенденцией быстро растущей распространенности резистентных пневмококков, когда устойчивость к пенициллинам во многих регионах выросла практически с нуля до 25–50% [41–43].

Еще более тревожная тенденция отмечается в отношении резистентности *S. pneumoniae* к макролидам. Данные многоцентрового проспективного исследования ПеГас за период 1999–2009 гг. свидетельствуют об относительно стабильном уровне устойчивости пневмококка к 14-, 15- и 16-членным макролидам в течение указанного периода времени [44]. Она варьировала в пределах 6,3–8,2%. В этом же исследовании нечувствительность к клиндамицину варьировала от 2,9% в 1999–2003 до 4,5% в 2006–2009 гг. Полученные нами данные показывают критически возросший уровень резистентности к макролидам и клиндамицину.

Настоящее исследование показало, что преобладающим механизмом резистентности к макролидам была модификация мишени путем метилирования, обусловленная наличием *ermB*-гена, который был выявлен у 74% эритромицинрезистентных штаммов в качестве одной детерминанты (против 53% в исследовании 2011–2013 гг. [32]) и в 17% — в ассоциации с *mef*-зависимым эффлюксом). В 9% случаев наблюдался только *mef*-зависимый механизм устойчивости. Число штаммов с *ermB*, *mef* и их комбинацией увеличилось по сравнению с российскими данными 2004–2005 гг. [45]. Таким образом, в последние годы в России значительно увеличилось число штаммов, имеющих сразу 2 механизма резистентности к макролидам, что вызывает обеспокоенность, т.к. этот фенотип связан с генетическими элементами клональных комплексов наиболее резистентных пневмококков [46].

Растущую резистентность к антибиотикам необходимо сопоставлять с существующей практикой эмпирической антибактериальной терапии в педиатрии. Как было показано в нашем исследовании, в лечении респиратор-

ных инфекций у детей доля макролидов составляет 26% и сопоставима с долей аминопенициллинов, лидирующими препаратами выбора при этом остаются цефалоспорины (до 45% в структуре назначений антибиотиков). Результаты проведенного исследования демонстрируют нецелесообразность назначения макролидов (как 14-, 15-, так и 16-членных, учитывая единый механизм антибиотикорезистентности) при пневмококковых инфекциях у детей. Препаратами выбора при лечении внебольничной типичной пневмонии, острого бактериального синусита, острого среднего отита должны быть аминопенициллины, в частности амоксициллин или амоксициллин/клавуланат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ серотипового разнообразия *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве свидетельствует о стабильности спектра циркулирующих пневмококков в детской популяции в нашей стране на протяжении последних десятилетий. Эти данные, наряду с результатами предыдущих исследований, могут быть положены в основу мониторинга за распространением серотипов, а также оценки эффективности начавшейся в стране вакцинации от пневмококковых инфекций. Полученные данные о растущей резистентности циркулирующих серотипов *S. pneumoniae* предполагают значительные изменения в существующей практике эмпирической антибиотикотерапии в педиатрии. Реализация этой назревшей потребности может быть обеспечена скорейшим принятием клинических протоколов по ведению пациентов с острыми респираторными инфекциями. Учитывая то, что все выявляемые на протяжении последних лет нечувствительные к антибиотикам штаммы пневмококка относятся к вакцинным серотипам, именно грамотное и четкое соблюдение вакцинального календаря и массовый охват вакцинацией ПКВ детей первых лет жизни будут способствовать снижению антимикробной резистентности *S. pneumoniae*.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Т.В. Куличенко, Н.А. Маянский — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Pfizer, Abbott, а также гонораров за выступление в качестве спикеров от компаний Merck, Abbott, Pfizer, Novartis, GlaxoSmithKline, Satius.

М.А. Лазарева, Н.М. Алябьева, О.А. Пономаренко, А.В. Лазарева, Л.К. Катосова — отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bogaert D., van Belkum A., Sluijter M. et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet*. 2004; 363: 1871–1872.
2. Harrison L. M., Morris J. A., Telford D. R. et al. The nasopharyngeal bacterial flora in infancy: effects of age, gender, season, viral upper respiratory tract infection and sleeping position. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1999; 25: 19–28.
3. Hernandez-Bou S., Garcia-Garcia J. J., Gene A. et al. Pneumococcal carriage in children attending a hospital outpatient clinic in the era of pneumococcal conjugate vaccines in Barcelona. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2012; 74: 258–262.
4. Dunai B., Bruno P., Carsenti-Dellamonica H. et al. Trends in nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* among children attending daycare centers in southern France from 1999 to 2006. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2008; 11 (27): 1033–1035.
5. Harboe Z. B., Slotved H.-C., Konradsen H. B., Kalsoft M. S. A Pneumococcal Carriage Study in Danish Pre-school Children before the Introduction of Pneumococcal Conjugate Vaccination. *Open Microbiol. J.* 2012; 6: 40–44.
6. Sekhar S., Chakraborti A., Kumar R. Haemophilus influenzae colonization and its risk factors in children aged < 2 years in northern India. *Epidemiol. Infect.* 2009; 137: 156–160.
7. De Lencastre H., Kristinsson K. G., Brito-Ava A. et al. Carriage of respiratory tract pathogens and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* colonization in healthy children attending day care centers in Lisbon, Portugal. *Microb. Drug Resist.* 1999; 5: 19–29.
8. Masuda K., Masuda R., Nishi J. et al. Incidences of nasopharyngeal colonization of respiratory bacterial pathogens in Japanese children attending daycare centers. *Pediatr. Int.* 2002; 44: 376–380.

9. Principi N., Marchisio P., Schito G.C., Mannelli S., Mannelli S. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1999; 18: 517–523.
10. Bogaert D., de Groot R., Hermans P.W. Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4: 144–154.
11. Verhagen L.M., Luesink M., Warris A. et al. Bacterial Respiratory Pathogens in Children With Inherited Immune and Airway Disorders: Nasopharyngeal Carriage and Disease Risk. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2013; 32: 399–404.
12. Walker C.L., Rudan I., Liu L., Nair H., Theodoratou E., Bhutta Z.A., O'Brien K.L., Campbell H., Black R.E. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. *Lancet.* 2013; 381: 1405–1416. Doi: 10.1016/S0140-6736 (13)60222–6.
13. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization — WHO position paper. *Weekly Epidemiol. Rec.* 2007; 82: 93–104.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Active Bacterial Core Surveillance Report. Emerging Infections Program Network, *Streptococcus pneumoniae*. 2008.
15. Kandasamy R., Gurung M., Thapa A. et al. Multi-Serotype Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage Prevalence in Vaccine Naive Nepalese Children, Assessed Using Molecular Serotyping. *PLoS One.* 2015; 10 (2): 0114286.
16. Simell B., Auranen K., Kayhty H. et al. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Exp. Rev. Vaccines.* 2012; 11: 841–855.
17. Vu H.T., Yoshida L.M., Suzuki M. et al. Association between nasopharyngeal load of Streptococcus pneumoniae, viral coinfection, and radiologically confirmed pneumonia in Vietnamese children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2011; 30: 11–18.
18. Syrjälinen R.K., Auranen K.J., Leino T.M. et al. Pneumococcal acute otitis media in relation to pneumococcal nasopharyngeal carriage. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2005; 24: 801–806.
19. Whitney C.G., Farley M.M., Hadler J., Harrison L.H., Bennett N.M., Lynfield R. et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugates vaccine. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 1737–1746.
20. Tocheva A.S., Jefferies J.M., Rubery H. et al. Declining serotype coverage of new pneumococcal conjugate vaccines relating to the carriage of Streptococcus pneumoniae in young children. *Vaccine.* 2011; 29: 4400–4404.
21. Rodenburg G.D., de Greeff S.C., Jansen A.G. et al. Effects of pneumococcal conjugate vaccine 2 years after its introduction, the Netherlands. *Emerging Infect. Dis.* 2010; 16: 816–823.
22. Sa-Leao R., Nunes S., Brito-Avo A., Frazao N., Simoes A.S., Crisostomo M.I. et al. Changes in pneumococcal serotypes and antibiotypes carried by vaccinated and unvaccinated day-care centre attendees in Portugal, a country with widespread use of the sevenvalent pneumococcal conjugate vaccine. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15: 1002–1007.
23. Farrell D.J., Klugman K.P., Pichichero M. Increased antimicrobial resistance among nonvaccine serotypes of Streptococcus pneumoniae in the pediatric population after the introduction of the 7-valent pneumococcal vaccine in the United States. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2007; 26: 123–128.
24. Hoban D., Baquero F., Reed V., Felmingham D. Demographic analysis of antimicrobial resistance among Streptococcus pneumoniae: worldwide results from PROTECT 1999–2000. *Int. J. Infect. Dis.* 2005; 9: 262–273.
25. Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Иваненко А.М., Пономаренко О.А., Катосова Л.К., Лазарева А.В., Куличенко Т.В., Намазова-Баранова Л.С. Бактериальная этиология острого среднего отита у детей до 5 лет: роль Streptococcus pneumoniae. *Вопросы диагностики в педиатрии.* 2013; 5 (3): 5–13.
26. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O., Pakhomov A., Kulichenko T., Ivanenko A., Lazareva M., Lazareva A., Katosova L., Namazova-Baranova L., Baranov A. Bacterial etiology of acute otitis media and characterization of pneumococcal serotypes and genotypes among children in Moscow, Russia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015; 34: 255–260.
27. Методические указания. (МУК) 4.2. 1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 91 с.
28. Leclercq R., Canto'n R., Brown D.F.J., Giske C.G., Heisig P., MacGowan A.P. et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19: 141–160.
29. Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Lahham A., Grudinina S.A., Iliina E.N., Weigel L.M., Sidorenko S.V. Mechanisms of macrolide resistance among Streptococcus pneumoniae isolates from Russia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008; 52: 2260–2262.
30. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Маянский Н.А., Куличенко Т.В. и др. Роль Streptococcus pneumoniae в структуре бактериальных инфекций у детей, госпитализированных в стационары г. Москвы в 2011–2012 гг. *Педиатрическая фармакология.* 2013; 10 (5): 6–12.
31. Shaikh N., Leonard E., Martin J.M. Prevalence of Streptococcal pharyngitis and Streptococcal carriage in children: A meta-analysis. *Pediatrics.* 2010; 126 (3): 557–564.
32. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O. et al. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive Streptococcus pneumoniae circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. *Int. J. Infect. Dis.* 2014; 20: 58–62.
33. Козлов Р.С., Чагарян А.Н., Козлова Л.В., Муравьев А.А. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2011; 2: 177–187.
34. Катосова Л.К., Сидорина Т.М., Батура А.П., Сотникова Г.Д. Серотипы S. pneumoniae у детей, больных хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1990; 2: 32–37.
35. Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Катосова Л.К., Гречуха Т.А., Пинелис В.Г., Намазова-Баранова Л.С. Определение капсульных серотипов пневмококка методом мультиплексной ПЦР. *Вопросы диагностики в педиатрии.* 2010; 2 (6): 6–10.
36. Харит С.М., Сидоренко С.В., Рулева А.А. и др. Распространенность пневмококковых пневмоний и отитов у детей младшего возраста (предварительные данные). *Вопросы современной педиатрии.* 2011; 10 (6): 103–107.
37. Richter S.S., Heilmann K.P., Dohrn C.L., Riahi F., Diekema D.J., Doern G.V. Pneumococcal Serotypes before and after Introduction of Conjugate Vaccines, United States, 1999–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19: 1074–1083.
38. Weinberger D.M., Malley R., Lipsitch M. Serotype replacement in disease after pneumococcal vaccination. *Lancet.* 2011; 378: 1962–1973.
39. Stratchounski L.S., Kretchikova O.I., Kozlov R.S., Reshedko G.K., Stetsiouk O.U., Tarasova G.D., Blochin B.M., Egorova O.A., Boyko L.M. Antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae isolated from healthy children in day-care centers: results of a multicenter study in Russia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2000; 19: 196–200.
40. Stratchounski L.S., Kozlov R.S., Appelbaum P.C., Kretchikova O.I., Kosowska-Shick K. Antimicrobial resistance of nasopharyngeal pneumococci from children from day-care centres and orphanages in Russia: results of a unique prospective multicentre study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12: 853–866.
41. Song J.H., Dagan R., Klugman K., Fritzel B. The relationship between pneumococcal serotypes and antibiotic resistance. *Vaccine.* 2012; 30: 2728–2737.
42. Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infections caused by antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (Suppl. 3): 16–20.
43. Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of Streptococcus pneumoniae. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15 (Suppl. 3): 7–11.
44. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И., Иванчик Н.В. Динамика резистентности Streptococcus pneumoniae к антибиотикам в России за период 1999–2009 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2010; 12 (4): 329–341.
45. Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Lahham A., Grudinina S.A., Iliina E.N., Weigel L.M., Sidorenko S.V. Mechanisms of macrolide resistance among Streptococcus pneumoniae isolates from Russia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008; 52: 2260–2262.
46. Linares J., Ardanuy C., Pallares R., Fenoll A. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in Streptococcus pneumoniae over a 30-year period. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16: 402–410.