Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр здоровья детей»

На правах рукописи

ЛАЗАРЕВА МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ПРИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ, ЕГО НОСИТЕЛЬСТВО И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности
14.01.18 – Педиатрия

Научный руководитель:
д.м.н. Т.В.Куличенко

Научный консультант:
д.м.н. Н.А.Маянский

Москва, 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений……..... **3**

Введение……. **4**

Глава 1. Пневмококковые инфекции у детей: носительство, клинические проявления, современная профилактика. Обзор литературы…… **12**

Глава 2. Пациенты и методы исследования…… **34**

Глава 3. Носоглоточное носительство *S. pneumoniae* у воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет…….. **42**

3.1. Микробный спектр при носоглоточном носительстве у детей в возрасте до 5 лет…… **42**

3.2. Серотиповое разнообразие S.pneumoniae при носоглоточном носительстве у детей в возрасте до 5 лет……. **49**

3.3. Антибиотикорезистентность исследованных штаммов *S.pneumoniae* и анализ молекулярных механизмов устойчивости к макролидам……..… **53**

Глава 4. Носоглоточное носительство *S. pneumoniae* при острых респираторных бактериальных инфекциях у детей младше 5 лет, его серотиповое разнообразие и чувствительность к антибиотикам…….…. **58**

4.1. Роль *S. Pneumoniae* в структуре острых респираторных бактериальных инфекций у детей младшего возраста, госпитализированных в стационары г. Москвы в 2011-2012 гг……..……. **58**

4.2. Практика назначения системных антибактериальных препаратов при респираторных инфекциях у детей младшего возраста……..…… **71**

Глава 5. Чувствительность к антибиотикам, клональное и серотиповое разнообразие пневмококков у детей с острым средним отитом……..…… **79**

5.1. Структура бактериальных возбудителей острого среднего отита у детей в возрасте до 5 лет……..… **79**

5.2. Серотипы и чувствительность к антибиотикам *S. pneumoniae* при остром среднем отите у детей в возрасте до 5 лет…….. **87**

5.3. Мультилокусное сиквенс-типирование (МЛСТ) штаммов пневмококка с множественной устойчивостью к антибиотикам……..…… **93**

Глава 6. Обсуждение результатов исследования…… **98**

Выводы …….. **115**

Практические рекомендации…… **117**

Библиография……. **119**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ENSP – Erythromycin-Nonsusceptible *Streptococcus Pneumoniae*, нечувствительный к эритромицину пневмококк

GAVI – Global Alliance for Vaccines and Immunisations, Глобальный альянс по вакцинам и иммунизации

iMLSb – индуцибельный тип резистентности к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В

MLSb тип резистентности – устойчивость к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В

PBP – Penicillin Binding Protein, пенициллин-связывающий протеин

PMEN – Pneumococcal Molecular Epidemiology Network, пневмококковая молекулярная эпидемиологическая сеть

PNSP – Penicillin-Nonsusceptible *Streptococcus Pneumoniae*, нечувствительный к пенициллину пневмококк

ЖСУ – жидкость среднего уха

ИПИ – инвазивные пневмококковые инфекции

МЛСТ – мультилокусное сиквенс-типирование

МПК – минимальная ингибирующая концентрация

ОРЗ – острые респираторные заболевания

ОСО – острый средний отит

ПКВ – пневмококковая конъюгированная вакцина

ППВ – пневмококковая полисахаридная вакцина

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ТМП/СМЗ – триметоприм-сульфаметоксазол

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*, пневмококк) - наиболее распространенный возбудитель респираторных бактериальных инфекций, менингитов и бактериемии у детей (Баранов А.А. и соавт., 2008; Walker C.L. et al., 2013). Пневмококковая инфекция признается ВОЗ ведущей причиной заболеваемости и смертности во всех регионах мира (WHO position paper, 2007). Бремя пневмококковых заболеваний особенно велико среди детей первых лет жизни, пожилых людей и лиц с хроническими болезнями (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). *S. pneumoniae* является одним из микробов, обычно колонизирующих носоглотку у детей младшего возраста, что создает основной резервуар инфекции и обеспечивает ее распространение (Simell B. et al., 2012). В настоящее время описано более 90 серотипов пневмококка, различающихся структурой капсульных полисахаридов, которые определяют вирулентность и иммуногенность микроорганизма. Не все серотипы являются одинаково патогенными, и большинство пневмококковых инфекций связаны с ограниченным числом серотипов (Hausdorff W.P. et al., 2005). Тяжесть пневмококковых заболеваний также различна, в большинстве случаев *S. pneumoniae* вызывает мукозальные инфекции, такие как острый средний отит и острый синусит. Вместе с тем именно пневмококк чаще всего является причиной тяжелых инвазивных инфекций. По данным ВОЗ, ежегодно от пневмококковой инфекции умирают 1,6 млн. человек, из них от 700 тысяч до 1 млн. детей в возрасте до 5 лет. Эта статистика отражает, главным образом, ситуацию в тех странах, где до настоящего времени не введена вакцинация детей от пневмококковой инфекции. Ежегодная частота инвазивных пневмококковых инфекций в этих регионах варьирует от 10 до 100 случаев на 100 тысяч населения. Так, пневмококк является главной причиной острых пневмоний у детей младше 2 лет. Пневмококковые пневмония, менингит и бактериемия расцениваются как тяжелые, нередко жизнеугрожающие заболевания,

представляющие серьезную проблему для здравоохранения (Баранов А. А. и соавт., 2009; Сидоренко С. В. и соавт., 2010; Reinert R. R. et al., 2010).

В то же время точная распространенность пневмококковых инфекций, а в особенности пневмококковой бактериемии в России до настоящего времени не известна. Этиологическое подтверждение бактериальных инфекций в повседневной педиатрической практике проводится редко, врачи ориентируются на клинические признаки, что затрудняет назначение этиотропной терапии. Не развита система эпидемиологического надзора за пневмококковыми инфекциями. Крайне редкие исследования крови и спинномозговой жидкости в сочетании с обычной практикой лечения антибактериальными препаратами детей с подозрением на бактериемию и менингит до каких-либо лабораторных исследований исключает возможность реально оценить частоту инвазивных пневмококковых заболеваний. Кроме того, лишь несколько лабораторий в стране могут выделить, идентифицировать и серотипировать пневмококк с высокой точностью. Таким образом, статистические данные о заболеваемости в России инвазивными пневмококковыми инфекциями в основном базируются на экспертных оценках.

Данные о распределении серотипов пневмококков в РФ ограничены, за последнее десятилетие в международной литературе было опубликовано всего несколько отчетов из России (Stratchounski L. S. et al., 2000, 2006; Reinert R. R. et al., 2008). В России лицензированы три пневмококковых конъюгированных вакцины (7-, 10-, и 13-валентные), массовая вакцинация от пневмококковых инфекций началась в конце 2014 года и пока не могла привести к принципиальным изменениям серотиповой структуры распространенных пневмококков. Вместе с тем именно сведения о серотиповом спектре пневмококковых инфекций могут рассматриваться как прогностический критерий эффективности национальных программ вакцинации. Публикации последнего времени свидетельствуют о значительном снижении заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями во многих странах мира после введения массовой вакцинопрофилактики пневмококковых заболеваний (Isaacman D.J. et al 2010; Sa-

Leao R. et al., 2009; Ho P. L. et al., 2011; Weil-Olivier C. et al 2012; Richter S. S. et al., 2013; Sharma D. et al., 2013).

Широкое и нередко необоснованное назначение антибиотиков при респираторных инфекциях у детей без учета их этиологии служит одним из основных факторов, определяющих рост антибиотикорезистентности пневмококка. За последние 30 лет распространенность устойчивых к антибиотикам штаммов пневмококка выросла во всем мире. В зависимости от региона доля нечувствительных к пенициллину изолятов колеблется от 5 до 50%, к макролидам – от 5 до 100% (Centers for Disease Control and Prevention, 2009; Козлов Р.С. и соавт., 2010). Вызывает обеспокоенность появление пневмококков с множественной устойчивостью (т.е. полирезистентностью – нечувствительностью к 3 и более группам антибиотиков), доля которых в некоторых странах достигает 30-50%. Выраженная региональная вариабельность резистентности *S. pneumoniae* диктует необходимость получения данных о его чувствительности к используемым антибиотикам и в России.

Цель исследования:

Определить циркулирующие серотипы пневмококков и охарактеризовать спектр их резистентности к антибиотикам у здоровых носителей и детей в возрасте до 5 лет с острыми респираторными инфекциями для улучшения эмпирической антибактериальной терапии.

Задачи исследования:

1. Сравнить частоту носительства *Streptococcus pneumoniae* в носоглотке у здоровых воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет.
2. Определить спектр микробного носительства при острых респираторных бактериальных инфекциях у детей (пневмонии, отиты, синуситы) и оценить вклад *Streptococcus pneumoniae* в этиологическую структуру.

3. Определить серотипы выделенных штаммов пневмококков и сравнить серотиповое разнообразие у различных групп обследованных детей.

4. Проанализировать бактериальную этиологию острого среднего отита у детей младшего возраста, дать характеристику клональной структуры пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам, выделенных у пациентов с острым средним отитом.

5. Оценить резистентность пневмококков к различным антибиотикам, используемым в педиатрии, и провести анализ молекулярно-генетических механизмов устойчивости к макролидам.

6. На основе данных о резистентности сформулировать рекомендации по рациональной эмпирической антибиотикотерапии пневмококковых инфекций у детей.

Научная новизна:

Получены современные данные о носоглоточном носительстве *S. pneumoniae* у детей младшего возраста, его частота у неорганизованных здоровых детей этой возрастной группы составляет 15%, у детей, посещающих детский сад, 24%, у воспитанников детского дома 26%. В спектре бактериальной колонизации носоглотки доля *S. pneumoniae* составила 31% у здоровых детей и 47% у детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями.

Анализ бактериальной этиологии острого среднего отита у детей младше 5 лет показал изменившуюся в последние годы структуру отопатогенов. В нашем исследовании была подтверждена лидирующая роль *S. pneumoniae* при остром среднем отите, его доля составила 69%. Частота выделения *S. pyogenes* (18%) в нашем исследовании значительно превышала таковую для *H. influenzae* (13%) и *M. catarrhalis* (9%).

В работе дана характеристика серотипового спектра циркулирующих пневмококков у детей младшего возраста. Установлено преобладание серотипов 19F, 6A и 6B, 23F, 14, которые составили > 75% распределения в разных когортах обследованных детей. Наиболее часто встречался серотип 19F, его доля в

серотиповом спектре превышала 20%. У детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями, в том числе с острым средним отитом актуальными являются также серотипы 3 и 19А.

Получены новые данные о критически возросшей в последние годы устойчивости *S. pneumoniae* к антибиотикам. Исследования, проведенные в 2011-12 гг. и 2013-14 гг., показывают рост устойчивости штаммов *S. pneumoniae* к пенициллину с 37% до 48%, к триметоприму/сульфаметоксазолу с 52 до 60%. Резистентность пневмококка к клиндамицину не изменилась, оставаясь на уровне 31-32% в последние годы. Множественная устойчивость пневмококка выросла с 25% в 2012 г. до 37% в 2014 г. При этом актуальные штаммы S. pneumoniae сохраняют высокую чувствительность к амоксициллину.

Уровень резистентности циркулирующих штаммов *S. pneumoniae* к макролидным антибиотикам превышает 30%, а в группе здоровых носителей он достигает 40% к 14- и 15-членным макролидам (эритромицин, азитромицин, кларитромицин) и 31% к 16-членному макролиду спирамицину, что позволяет считать нецелесообразным их применение при пневмококковых инфекциях.

Представлены данные об изменении механизмов резистентности *S. pneumoniae* к макролидам. Показано возрастание до 52% доли эритромицин-резистентных штаммов *S. pneumoniae* с наличием *ermB*-гена в качестве одной детерминанты и до 35% – в ассоциации с *mef*-зависимым эффлюксом. Полученные данные позволяют констатировать, что в последние годы в России значительно увеличилось число штаммов, имеющих сразу два механизма резистентности к макролидам, этот фенотип связан с генетическими элементами клональных комплексов наиболее резистентных пневмококков.

Описанные в работе изоляты пневмококка с множественной устойчивостью принадлежали к ограниченному числу клональных линий, которые не были описаны в России ранее. Анализ клональной структуры пневмококков показал преобладание изолятов, относящихся к клональному комплексу CC320. Штамм

пневмококка серотипа 19А с ST320, обнаруженный в ходе настоящей работы, является первым пневмококком такого рода, выявленным в нашей стране.

Практическая значимость:

Полученные в настоящем исследовании данные о чувствительности к антибиотикам, серотиповом составе изолятов пневмококка у детей младшего возраста могут быть использованы для мониторирования изменений сероэпидемиологии, сиквенс-типов и резистентности *S.pneumoniae* после начала массовой вакцинации от пневмококковой инфекции, включенной в российский календарь иммунизации в 2014 г.

Представленные данные об актуальных серотипах *S.pneumoniae* позволяют прогнозировать эффективность вакцинации от пневмококковых инфекций после начала массовой иммунизации детского населения. Результаты наших исследований показывают совпадение спектра циркулирующих серотипов на 63,5 - 81% для ПКВ7 и ПКВ10 и на 86 - 93% для ПКВ13 в различных когортах детей младшего возраста.

Установленные в работе сероэпидемиология и молекулярно-генетические характеристики *S.pneumoniae* обосновывают использование ПКВ с расширенным охватом серотипов, включая серотип 19А, даже несмотря на относительно небольшую долю этого серотипа среди циркулирующих штаммов пневмококков.

На основании полученных в исследовании новых данных об устойчивости *S.pneumoniae* к антибиотикам могут быть сформулированы рекомендации по антибактериальной терапии пневмококковых инфекций. Сохраняющаяся высокая чувствительность *S.pneumoniae* к амоксициллину (> 90%) позволяет рекомендовать его препаратом первого выбора при острых бактериальных инфекциях пневмококковой этиологии у детей.

Повышение уровня резистентности исследованных штаммов пневмококка к макролидным антибиотикам до 40% свидетельствует о нецелесообразности рутинного использования любых макролидов для лечения пневмококковых инфекций. Устойчивость *S.pneumoniae* к 14- и 15-членным макролидам

(эритромицин, азитромицин, кларитромицин) не различается, резистентность к 16-членным макролидам (спирамицин), согласно результатам нашего исследования, также превышает 30%, что было обусловлено едиными для всех антибиотиков этой группы механизмами антимикробной устойчивости.

Представленные данные о бактериальной этиологии острого среднего отита у детей и чувствительности выявленных отопатогенов к антибиотикам позволяют рекомендовать для лечения амоксициллин±клавуланат в качестве препарата первого выбора.

Апробация работы

Основные положения и результаты исследования были представлены в виде докладов и обсуждены на XV, XVI, XVII, XVIII и XIX Конгрессах педиатров России (Москва, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 гг.); на научно-практической конференции Союза педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Казань, 2011 г.); на Международном Конгрессе «Europediatrics-2013» (Глазго, 2013 г.); на съезде детских инфекционистов (Санкт-Петербург, 2012 г.); на Конгрессе Европейского общества детских инфекционистов ESPID (Салоники. 2012 г.), на Конгрессах Европейского общества клинической микробиологии и инфекционных болезней ECCMID (Барселона, 2014 г., Копенгаген, 2015 г.) на научно-практических конференциях педиатров (Рязань, 2014 г., Хабаровск, 2014 г, Ростов-на-Дону, 2015 г.).

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования включены в лекционные курсы тематического усовершенствования и сертификационный цикл лекций на кафедре педиатрии и

кафедре аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета ГОУ ВПО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова. Результаты работы используются в учебном курсе по педиатрии и внедрены в учебный процесс для клинических ординаторов и аспирантов в Отделе постдипломного профессионального образования НЦЗД РАМН.

Результаты исследований использованы в обучающих семинарах по педиатрии для врачей-педиатров и пульмонологов г. Москвы.

Результаты исследований применяются в повседневной клинической практике в отделении неотложной педиатрии и консультативно-диагностическом центре ФГБНУ НЦЗД.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 15 рисунками, 19 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 217 источников, из которых 22 отечественных и 195 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ПНЕВМОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ: НОСИТЕЛЬСТВО, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, СОВРЕМЕННАЯ ПРОФИЛАКТИКА: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Введение

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*, пневмококк) — наиболее частый возбудитель бактериальных респираторных инфекций, а также значимый этиологический агент при бактериемии и менингите [1,2]. Пневмококковая инфекция признается Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) ведущей причиной заболеваемости и смертности во всех регионах мира [3]. По данным ВОЗ на 2005 г. ежегодно от пневмококковой инфекции умирают 1,6 млн человек, из них от 700 тыс до 1 млн детей в возрасте до 5 лет, эта статистика отражает, главным образом, ситуацию в развивающихся странах, где до настоящего времени не введена вакцинация детей от пневмококковой инфекции [4]. Ежегодная частота инвазивных пневмококковых инфекций в этих регионах варьирует от 10 до 100 случаев на 100 тысяч населения. Так, пневмококк является главной причиной острых пневмоний у детей младше 2 лет, а каждая 200-я госпитализация детей до 5 лет связана с пневмококковой инфекцией или ее осложнениями. Все эти состояния, включая пневмококковую пневмонию, менингит и бактериемию, расцениваются как тяжелые, нередко жизнеугрожающие заболевания и являются серьезной проблемой для здравоохранения [5-7]. Инвазивные формы инфекции включают не только пневмонию, но и менингит и бактериемию. Пневмококки – также наиболее частые возбудители отита и синусита, которые относят к мукозальным инфекциям [8].

Заболеваемость инвазивными пневмококковыми инфекциями (ИПИ) в развитых странах достигает 8-34 случаев на 100 тыс населения, варьируя в зависимости от географического положения, а уровень смертности составляет от 10% до 30% [9-11]. Точных статистических данных о частоте ИПИ в РФ нет, поскольку отсутствует система повсеместного надзора за пневмококковыми инфекциями. Предполагается, что пневмококковой бактериемией заболевают

около 3 тыс детей ежегодно, пневмококковой пневмонией – 39 тыс, а пневмококковыми отитами – 713 тыс [8,12-14].

Пневмококк – сферическая инкапсулированая грамположительная бактерия, обладающая различными факторами вирулентности, включающими капсульный полисахарид, пневмолизин, пневмококковый поверхностный протеин А, пневмококковый поверхностный протеин С и пневмококковый поверхностный адгезин А. Среди всех перечисленных, капсульный полисахарид считается наиболее значимым фактором вирулентности, так как образует вокруг пневмококка защитную оболочку, оберегающую его от фагоцитоза. В настоящее время известно 94 капсульных серотипа пневмококка, включая обнаруженные недавно серотипы 6C, 6D, 11E и 20A/20B [15-17].

Серьезной проблемой является рост резистентности пневмококка к антибиотикам. На формирование резистентности оказывают влияние такие факторы как генетические мутации, приобретение новой генетической информации, изменение экспрессии собственных генов. Появляются штаммы, резистентные к пенициллину, тетрациклинам, макролидам, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу. Рост устойчивости микробов к антибиотикам порождает новые медикосоциальные проблемы: возникает необходимость закупки дорогих альтернативных антибактериальных препаратов, увеличивается продолжительность госпитализации [7,8,18,19].

1.1. Носоглоточное носительство *S. pneumoniae*

Пневмококк обитает только в носоглотке человека и не имеет естественного резервуара у животных. Люди являются единственной мишенью для пневмококковой инфекции, а источником инфекции являются пневмококковые носители. Носоглоточное носительство является важнейшим элементом распространения пневмококковой инфекции, и его эпидемиология крайне важна. В регуляции миграции патогена в слизистой носоглотки важнейшую роль играет локальный иммунный ответ. Серотипы, стимулирующие слабый иммунный ответ, колонизуют слизистую в течение более длительного периода, и более низкий

уровень носительства у взрослого населения указывает на формирование иммунитета после предшествующих контактов с патогеном [20].

Таким образом, носоглоточная колонизация *S.pneumoniae* рассматривается как основной резервуар инфекции и фактор ее распространения [21]. 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 [22], острым средним отитом [23].

Бессимптомная транзиторная 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 и созреванием иммунной системы [24,25].

На частоту и продолжительность бессимптомного носоглоточного носительства у здоровых детей влияет множество факторов, в их числе возраст, географический регион проживания, сезон, большое количество контактов с другими детьми, посещение детских дошкольных учреждений, бытовые условия, пассивное курение, частые респираторные инфекции и прием антибактериальных препаратов [12]. 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 обусловливать развитие тяжелых системных бактериальных инфекций у детей [13]. Колонизация носоглотки условно-патогенной флорой рассматривается как особый фактор риска для развития инфекционных болезней у детей с первичными иммунодефицитами, хроническими болезнями органов дыхания [14].

Большинство исследований свидетельствуют, что пневмококк появляется в носоглотке у младенцев уже в первые месяцы жизни, а пик пневмококкового носительства приходится на первые три года жизни [26,27]. Среди взрослого населения уровень носоглоточного носительства *S. pneumoniae* составляет 1-10% [13,28]. Многие дети раннего возраста являются носителями не менее 2-х

серотипов пневмококка, у некоторых обнаруживается не менее 4-х серотипов одновременно [29]. Колонизация одним серотипом *S.pneumoniae* может продлиться от одного до нескольких месяцев, затем микроорганизм элиминируется, что не препятствует новой колонизации другим типом пневмококка.

По данным литературы, распространенность носоглоточной колонизации пневмококком у детей до 5 лет в среднем варьирует в диапазоне 23 – 56% [30-32]. Частота сочетанного носительства разных серотипов различается от 2% до 49% [33]. Примерно до 9-летнего возраста уровень носительства составляет около 20-40%, а затем прогрессивно снижается [34,35]. Уровень носительства пневмококка вариабелен в зависимости от региона, с максимальными значениями в бедных странах с неразвитой системой вакцинопрофилактики. В исследованиях Mackenzie и соавт. и Hill и соавт., например, было показано, что при отсутствии вакцинации от пневмококковых инфекций уровень носительства *S. pneumoniae* превышает 30% даже среди молодых людей 17-21 года [36,37].

Вакцинация детей до 5 лет семивалентной конъюгированной вакциной (ПКВ7) привела к значительному снижению носоглоточного носительства вакцинных штаммов пневмококка и уменьшению на 90% частоты инвазивных пневмококковых инфекций, обусловленных вакцинными серотипами [38-40]. Однако вместе с этим повсеместно выросла частота носоглоточного носительства серотипов, не включенных в ПКВ7 [41,42]. Появление в 2010 году двух новых пневмококковых конъюгированных вакцин (10-валентной, ПКВ10, и 13-валентной, ПКВ13) имело целью создание иммунитета к большему числу значимых для развития инвазивных инфекций серотипов.

Серотиповое разнообразие *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве отличается для детей младше 5 лет и подростков/взрослых. До введения ПКВ7 среди детей до 5 лет преобладали серотипы 19F, 6A, 6B и 23A, в то время как серотипы 3 и 23F чаще встречались среди подростков и взрослых [34,35]. После начала вакцинации ПКВ7 данные серотипы заменились невакцинными штаммами 19A, 6C, 11A, 15Aи 15B/C [43].

Длительность колонизации может варьировать от нескольких дней до нескольких месяцев в зависимости от серотипа. Серотип 1 редко обнаруживается в носоглотке, а серотипы 4, 5 и 7F хоть и обладают потенциалом колонизовать эту область, живут там значительно короче, чем другие штаммы [44,45]. Sleeman и соавт. определили среднюю продолжительность пневмококкового носительства наиболее распространенных колонизующих серотипов; она варьировала от 5,9 недель для серотипа 15C до 19.9 недель для серотипа 6B [45].

Причина носительства пока до конца не ясна. Были предложены несколько теорий, большинство из которых сводится к взаимодействию между бактерией и системой иммунной защиты хозяина. Серотип-специфическая полисахаридная капсула обеспечивает защиту от иммунноопосредованной ликвидации несколькими путями, включая блокирование отложения и функционирования опсонинов, противодействие нейтрофилам и мукоцилиарному клиренсу [46]. Как степень колонизации носоглотки, так и вирулентность патогена напрямую зависят от степени инкапсуляции. Weinberger и соавт. продемонстрировали, что уровень носительства серотипов с выраженной капсулой намного выше [47]. Более того, капсулы, в составе которых присутствовало много молекул углерода, были меньшего размера и более подвержены уничтожению системой местного иммунитета. Авторы предполагают, что капсулы с меньшим количеством молекул углерода требуют меньше энергии для ее построения, что позволяет увеличить размер капсулы, а следовательно и способность к колонизации и персистированию в носоглотке человека [47].

1.2. Клиническая роль *S. pneumoniae* при различных заболеваниях

Серотипы S. pneumoniae различаются по своему инвазивному потенциалу, а также могут ассоциироваться с теми или иными клиническими формами инфекции. После начала вакцинации ПКВ7 резко возросла частота выявления серотипа 19A у пациентов с ОСО [48,49]. Серотипы 3, 11A и нетипируемые пневмококки ассоциируются с острым конъюнктивитом [50]. Серотипами с низким инвазивным потенциалом признаны 1, 5 и 7F, они обычно выявляются при инфекциях у

молодых здоровых взрослых, уровень смертности при этом очень низок. Серотипы со средним и высоким инвазивным потенциалом чаще обнаруживаются у пожилых с сопутствующей соматической патологией [51,52]. Такие серотипы как 3, 6A, 6B, 9V, 14, 19A и 23F 19F и 23F часто являются причиной острого среднего отита (ОСО) у маленьких детей в всем мире [53].

Мета-анализ всех случаев летальных исходов от пневмококковых инфекций показал, что с наиболее низким уровнем смертности ассоциируются серотипы 1, 7F и 8, а с наиболее высоким – серотипы 3, 6A, 6B, 9N и 19F [54]. В когортном исследовании, проведенном в Дании в период 1977-2007 гг., наиболее высокий уровень смертности от ИПИ обусловливали серотипы 3, 10A, 11A, 15B, 16F, 17F, 19F, 31 и 35F (при сравнении с серотипом 1, p<0/001) [55]. Van Hoek и соавт. изучали все случаи летальных исходов ИПИ в Англии с апреля 2002 по март 2011, оценивая при этом серотип возбудителя и возраст пациента (группы < 5 лет, 5-64 года и ≥ 65 лет) [56]. Среди детей младше 5 лет общий уровень смертности был низким (3%), максимальный риск неблагоприятного исхода определяли серотипы 6A (7%), 19F (5%), 9V (5%) и 3 (5%). В возрастной группе от 5 до 64 лет доля смертельных исходов составила 10%: 33% при серотипе 31, 30% - при 11A и 21% - при 19F, а самый низкий уровень смертности ассоциировался с серотипами 1, 7F и 8 (3%, 4%, и 6%, соответственно). Максимальная смертность была выявлена среди пожилых (группа пациентов ≥ 65 лет), она составила 30%; серотипы 19F (41%), 31 (40%) и 3 (39%) были ассоциированы с наибольшей частотой летальных исходов, а с наименьшей – серотипы 1(17%), 7F (20%) и 12F (21%) [56].

Пневмония

S. pneumoniae – наиболее частый возбудитель внебольничной пневмонии у детей и взрослых [57,58]. В то время как до 60-80% случаев пневмококковой пневмонии являются небактериемическими (мукозальными), пневмонии с бактериемией протекает особенно тяжело [57,59,60]. Различные серотипы пневмококка при этом также обладают разной вирулентностью. Введение нескольких колониеобразующих единиц (КОЕ) серотипов 2 и 3 мышам приводит к

бактериемии и смерти, в то время как серотип 19 способен вызвать бактериемию только при введении нескольких десятков КОЕ [61].

Согласно недавно проведенному мета-анализу, серотип пневмококка 14 является наиболее распространенным этиологическим фактором внебольничной пневмонии в странах Южной Америки и Карибского бассейна, за ним следуют серотипы 1 и 5 [62]. В период после введения вакцинации ПКВ7 стали доминировать серотипы 1, 19A и 3. Доля серотипа 14 в структуре внебольничной пневмонии после введения вакцины ПКВ7 снизилась до 5% [60,63]. Burgos и соавт., однако, сообщают, что среди взрослого населения Испании серотип 14 все еще является лидирующим этиологическим фактором пневмококковой пневмонии, даже поле введения ПКВ7 [64]. Схожие результаты были получены Bewick et al. в Великобритании, где наиболее часто выявляемыми серотипами при внебольничной пневмонии были 14, 1, 8, 3 и 19A, а серотипы 19A, 3 и 6A/C были лидирующими инвазивными штаммами [65]. Авторы заключили, что при проведении когортных исследований только бактериемических случаев пневмонии роль 14 серотипа может оказаться недооценена. Расширение спектра вакцинных серотипов приведет к изменению результатов эпидемиологических исследований.

Менингит

Во все мире менингит, вызванный *S. pneumoniae*, становится причиной около 60 тыс смертей и инвалидизации детей ≤ 5 лет ежегодно [66]. Распространённость пневмококкового менингита наиболее высока среди детей младше 1 года. Согласно мониторингу, проведенному в Уганде, среди детей младше 5 лет наиболее распространенным серотипом при менингите является 6A/6B (40%), за которым следуют 22A, 23F, 14 и 19A [67]. Ранее серотипы 1, 3 и 5 редко являлись возбудителями менингита [17], однако в недавних исследованиях было отмечено, что 60-80% пневмококковых менингитов в странах так называемого Африканского менингитного пояса вызваны серотипом 1, причем уровень смертности при таком менингите выше, чем при менингококковом [68]. В отличие от США и Европы, где наблюдаются различия в серотиповом преобладании среди детей и взрослых, в Африканских странах менингит, обусловленный серотипом 1, доминирует как

среди детей старшего школьного возраста, так и среди взрослых, ассоциируясь с высоким уровнем смертности. Такие различия обусловлены скорее происхождением серотипа 1 в этой зоне, нежели характеристиками самого серотипа [69]. При помощи метода МЛСТ (мультиклонального сиквенс-типирования) было обнаружено три генетических варианта серотипа 1, каждый из которых географически обособлен. Людям, собирающимся посетить страны Африканского менингитного пояса, рекомендуется в дополнение к менингококковой вакцинации проведение вакцинации ПКВ13.

В США серотиповое разнообразие штаммов, вызывающих пневмококковый менингит, претерпело значительные изменения после введения ПКВ7. При сравнении сообщений 1998-1999 гг. и 2004-2005 гг. можно отметить значительное снижение частоты менингита, обусловленного вакцинными серотипами (с 59% до 23%, $p<0.001$) [70]. При снижении общей заболеваемости пневмококковым менингитом выросла частота менингитов, вызванных не входящими в ПКВ7 серотипами пневмококка: с 28% до 65%, с преимущественным преобладанием серотипов 19A и 22F [70].

В Российской Федерации обязательной регистрации подлежат только случаи менингококковой инфекции. В период с 2003 по 2007 гг. в Москве и Санкт-Петербурге на пневмококковые менингиты приходилось от 3,7% до 27,7% всех бактериальных менингитов. Однако заболеваемость пневмококковыми менингитами в РФ в различных возрастных группах изучена недостаточно [71].

Острый средний отит

Острый средний отит (ОСО) — наиболее распространенная бактериальная инфекция в мире, особенно часто возникающая у детей в возрасте до 2 лет, а также основная причина назначения антибактериальной терапии и проведения тимпаноцентеза у детей. Каждый год острым средним отитом заболевают 709 млн человек, из них 51% — дети в возрасте до 5 лет. Ухудшение функции слуха, связанное с перенесенным острым средним отитом, встречается с частотой 30,8 на 10 тыс. человек [72].

Около 80-90% детей к возрасту 3 лет переносят как минимум один эпизод ОСО [73-75]. В США на долю ОСО приходится наибольшее число рецептов на антибиотики для детей. В Москве заболеваемость ОСО составляет примерно 6 тыс случаев на 100 тыс детского населения в год [76]. Основными бактериальными отопатогенами считают *S. pneumoniae* и нетипируемую *H. influenzae*, на долю которых приходится до 60-80% микробиологически подтвержденных случаев ОСО [53,77].

Острые респираторные заболевания

Многие авторы отмечают взаимосвязь между уровнем заболеваемости и тяжестью течения острых респираторных заболеваний (ОРЗ) с инфицированием *S. pneumoniae*. Kouni и соавт. исследовали 611 детей с ОРЗ и заключили, что предшествующая пневмококковая вакцинация снижает вероятность госпитализации таких пациентов [78]. Klugman и соавт. отметили выраженную корреляцию между инфицированием вируса гриппа А и риском развития ИПИ [79]. Коинфекция указанными патогенами приводила к развитию тяжелой, жизнеугрожающей пневмонии. В пандемии гриппа 1918 года большинство смертей были вызваны вторичной пневмонией, причем пневмококк был самым распространенным коинфицирующим патогеном [79]. Во время пандемии H1N1 в 2009 пневмококк был самым распространенным агентом коинфекции, выделявшимся у пациентов, погибших от H1N1-инфекции.

1.3. Антибактериальная резистентность *S. pneumoniae*

Формирование антибактериальной резистентности S.pneumoniae в историческом контексте

Инфекции, вызываемые *S.pneumoniae*, традиционно лечились пенициллином; пневмококк был очень чувствителен к нему со времени создания антибиотика в 1940-х гг. Активное использование пенициллина привело к появлению в 1969 году первого сообщения о резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину. Это был носоглоточный штамм 4 серотипа, выделенный из горла 3-летнего мальчика в Новой Гвинее. У изолята сохранялась чувствительность к

хлорамфениколу, эритромицину и тетрациклину, но минимальная подавляющая концентрация (МПК) пенициллина составила 0,5 мкг/мл [80]. На проблему резистентности не обращали серьезного внимания вплоть до 1977 года, когда в Дурбане и Йоханнесбурге произошли эпидемии ИПИ, вызванных высокорезистентными к пенициллину штаммами *S.pneumoniae* (МПК 2 - 8 мкг/мл). В дополнение к значительному повышению МПК пенициллина у эпидемических штаммов также была обнаружена резистентность к хлорамфениколу, макролидам и тетрациклину [81]. Затем участились сообщения из разных стран о множественной устойчивости пневмококков, что подразумевало устойчивость микроорганизма к 3 и более классам антибиотиков [82].

В России в течение 1999-2009 гг. проведено крупное многоцентровое проспективное исследование ПеГАС, целью которого являлось оценить динамику антибактериальной резистентности *S. pneumoniae* [83]. В результате этого исследования выяснилось, что за 1999-2009 гг. в РФ не отмечено повышения устойчивости пневмококков к пенициллину, амоксициллину, амоксиклаву, аугментину, цефиксиму, цефтибутену, цефтриаксону и эртапенему. Резистентность к этим антибиотикам составила 11%, 0,4%, 0,4%, 0,4%, 6,8%, 12,9%, 1,8% и 0%, соответственно. Устойчивость *S. pneumoniae* к макролидам за весь период мониторинга не превысила 9%. Доля нечувствительных к клиндамицину пневмококков незначительно возросла: с 2,9% в 1999-2003 гг. до 4,5% в 2006-2009 гг. Наиболее эффективными антибиотиками оказались респираторные фторхинолоны и ванкомицин (100% штаммов чувствительны), а резистентность к ципрофлоксацину уменьшилась в 2 раза: с 16,1% в 1999-2003 гг. до 7,8% в 2006-2009 гг. За изученный период времени сохранялась низкая чувствительность пневмококка к тетрациклинам и ко-тримоксазолу (стабильно около 30% резистентных штаммов) [83].

Факторы, влияющие на формирование резистентности

Широкое применение антибиотиков – мощная движущая сила эволюции антибактериальной резистентности. Анализ 31000 штаммов пневмококка в

Финляндии выявил сильную корреляционную связь между резистентностью к макролидам и предшествующим употреблением антибиотиков этой группы. Взаимосвязь также была обнаружена между резистентностью к пенициллину и предшествующим приемом бета-лактамов или цефалоспоринов [84]. При обследовании более 3300 больных с ИПИ в Канаде было обнаружено, что у пациентов, употреблявших макролиды, ко-тримоксазол или фторхинолоны в течение 3-х месяцев, предшествоваших возникновению ИПИ, вероятность выявления резистентного штамма пневмококка была в 4 раза выше, чем у пациентов, не принимавших антибиотики в этот промежуток времени [85].

На появление резистентных штаммов у отдельного субъекта оказывает влияние не только индивидуальный прием антибиотиков, но и степень потребления антибиотиков на территории его проживания. Так, сравнительный анализ степени потребления антибиотиков в 15 странах Европы в период 1998-2004 и 2004-2005 показал, что антимикробная резистентность значительно ассоциирована с общим уровнем потребления антимикробных препаратов в стране [86,87].

В процессе или после курса антибактериального лечения в организме могут сохраняться незначительные концентрации антибиотиков. Известно, что воздействие неингибирующей дозы антибактериального препарата приводит к ряду генотипических и фенотипических изменений в пневмококках, например, вызывает увеличение частоты мутаций [88]. При последующем воздействии антибиотика гипермутационная способность позволяет пневмококкам быстро адаптироваться к стрессовой ситуации, создаваемой препаратом. Было продемонстрировано, что воздействие субподавляющей концентрации ципрофлоксацина или стрептомицина приводит к повышению резистентности *S. pneumoniae* в 2-5 раз [88].

Геномная пластичность

Геномная пластичность *S.pneumoniae* была впервые отмечена Avery, Macleod и McCarty в их новаторском эксперименте 1944 года, который продемонстрировал, что ДНК - это «трансформирующаяся частица», способная передавать инструкции

по формированию структуры капсулы и факторов вирулентности между разными штаммами [89]. *S. pneumoniae* способны использовать для встраивания в свой геном любую одноцепочечную молекулу ДНК, таким образом, рекомбинация может происходить не только с разными штаммами пневмококка, но и с другими родственными видами, которые занимают ту же экологическую нишу. За последнее десятилетие сравнительная геномика позволила микробиологам понять, насколько важную роль играет в формировании антибактериальной резистентности *S. pneumoniae* геномная пластичность. Изменчивая природа пневмококка обладает потенциалом для активного появления новых фенотипов бактерии при возникновении стрессовой ситуации, что является мощной движущей силой роста антибактериальной резистентности [90].

Сумму геномов всех бактерий популяции можно охарактеризовать как пан-геном, содержащий основной и добавочный компоненты. Основной геном содержит гены, присутствующие во всех членах популяции и кодирующие важнейшие функции клетки, трансдукцию сигнала и центральный метаболизм. Добавочный геном содержит «необязательные» гены, выявляемые лишь у некоторых членов вида; эти гены не являются необходимыми для выживания, однако дают бактерии некоторое преимущество в определенной среде. Сюда входят гены, кодирующие механизмы антибактериальной резистентности. Добавочные гены редко являются «врожденными» для *S. pneumoniae* и чаще всего приобретены в процессе трансформации с другими видами бактерий [91].

Пан-геном намного больше любого индивидуального генома и включает в себя все гены, доступные любой бактерии. Любая бактерия, способная к трансформации и разделяющая одну нишу с *S.pneumoniae*, может добавить, или наоборот, забрать, гены из этого резерва [92]. Исследования пан-генома продемонстрировали высокую вариабельность генома среди разных штаммов пневмококка. В исследовании Hiler и соавт. сравнительная геномика 17 штаммов пневмококка (включая 8 штаммов из носоглотки детей с симптомами поражения верхних дыхательных путей) показала, что меньше половины генов пан-генома присутствуют во всех штаммах [93]. Филогенетический анализ 44 пневмококковых

геномов, включая различные серотипы и генетические клоны, изолированные как от носителей, так и от пациентов с ИПИ, проживающих в различных географических районах, показал, что большинство существующих сегодня штаммов пневмококка произошли от одного из шести древних родов (4 *Streptococccus mitis*, 1 *Streptococcus infantis* и 1 *Streptococcus oralis*). Горизонтальный перенос генов и рекомбинация между *S. pneumoniae* и *S. mitis* являются причиной вариабельности 30% основного генома *S. mitis* [94].

Croucher и соавт. применили новый подход к исследованию генетической рекомбинации и точечных мутаций как двигателей эволюции антимикробной резистентности. При изучении 240 изолятов PMEN1 клона пневмококка с множественной лекарственной устойчивостью было обнаружено более 700 рекомбинаций, среди которых было 10, которые привели к изменениям в структуре капсулы, включая ту, что была ответственна за активацию 19A серотипа пневмококка после внедрения ПКВ7 в США [90].

Молекулярно-генетические механизмы резистентности к различным антибиотикам

Классический механизм резистентности к пенициллину или другим бета-лактамам у *S. pneumoniae заключается* в модификации пенициллин-связывающего белка (PBP) – фермента, принимающего участие в последнем этапе синтеза бактериальной стенки. Механизм действия бета-лактамов состоит в связывании PBP, что снижает выработку пептидогликана и ремоделирование. Это приводит к нарушению целостности бактериальной стенки, что влечет за собой либо остановку роста клетки, либо ее лизис [95].

Резистентность к бета-лактамам пневмококков увеличилась после появления мозаичного блока генов PBP со сниженным родством к молекуле антибиотика. В S.pneumoniae было описано 6 PBP: 1a, 1b, 2x, 2a, 2b и 3. Большинство резистентных штаммов к бета-лактамам формируются в результате мутаций только в 3х из них. Изменения в последовательности аминокислот в белках PBP2b и PBP2x приводят к формированию резистентности к пенициллину, а мутации в PBP1a в сочетании с PBP2b и PBP2x увеличивают МПК пенициллина [96].

Эпидемиологические аспекты пневмококковой резистентности

Бета-лактамы

Определение резистентности к пенициллину – комплексная задача. Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical Laboratory Standarts Institute, CLSI) и Европейский комитет по тестированию антимикробной чувствительности (European Committee on Antimicrobal Susceptibility Testing, EUCAST) регулярно публикуют пороговые значения для интерпретации тестов антимикробной чувствительности. Пороговые значения отличаются для менингита и других пневмококковых инфекций, а также для парентерального и перорального приема антибактериального препарата. Термин «пенициллин-резистентный» штамм *S. pneumoniae* подразумевает, что данный штамм классифицирован как резистентный или штамм с промежуточной резистентностью на основании данных пороговых значений [97-99]. Частота выявления пенициллин-нечувствительных пневмококков (PNSP) варьирует в широких пределах в странах, которые не включили PCV7 в национальную программу иммунизации. В странах Азии частота выявления PNSP в 2000-2001 гг. варьировала от 7,8% до 92% [99]. Тем не менее, при определении пороговых значений неменингитных изолятов пневмококка в азиатских странах в 2008 году, доля резистентных пневмококков (МПК ≥ 8,0 мг/л) значительно снизилась до 5% в течение 2008-2009 гг. В других регионах частота выявления PSNP (на основании пороговых значений, составленных до 2008 года) также была относительно высока. В северо-восточном средиземноморском регионе, общая частота выявления PSNP в 2003-2005 гг. составила 25% [100]. В 10 странах Южной Америки доля PSNP на 2000-2005 гг. составила 30,5% среди менингитов и 38,8% среди пневмоний, сепсисов и бактериемий [101]. В странах Африки уровень PSNP по сообщениям из Кении, Уганды, Танзании и Эфиопии за 2003-2007 гг. составил 0% [102].

Введение ПКВ7 в национальную программу иммунизации в США было ассоциировано с существенным снижением доли PSNP, за которым последовало повышение, связанное с заменой вакцинных серотипов невакцинными [103-106]. На уровень резистентности повлияло также введение новых пороговых значений

CLSI и EUCAST в 2008 году: уровень резистентности для пневмококков-возбудителей менингита стал выше, чем для других пневмококковых инфекций. В США доля резистентных менингеальных изолятов повысилась с 10,7% при старых пороговых значениях до 27,5% – при новых.

Макролиды

Введение ПКВ7 привело также к снижению частоты выявления эритромицин-нечувствительных пневмококков (ENSP), но их доля в последнее время начала расти [107-109]. Исследование PROTEKT US в 2009 г. опубликовало данные, указывающие на повышение доли ENSP (МПК ≥ 1,0 мкг/мл) в изолятах от пациентов с внебольничными инфекциями дыхательных путей [110]. В целом уровень резистентности к эритромицину значительно возрос до 35,5% в 2005-2006 гг. в сравнении с 30% за предыдущие 3 года ($p<0,0001$). В частности, уровень резистентности высокой степени (МПК ≥ 32,0 мкг/мл) возрос с 13,4% в 2004-2005 гг. до 18,0% в 2005-2006 гг. ($p = 0.003$). Большинство изолятов 2005-2006 гг. относились к серотипам 19A (69,2%) и 19F (26,8%).

Стабильная или возрастающая доля ENSP была отмечена в странах без PCV7 в национальной программе иммунизации [99,111] или с низкой частотой использования вакцины [112]. Например, доля ИПИ, вызванных ENSP, среди детей возросла за 2000-2005 гг. в Венгрии, Финляндии, Нидерландах и Германии [112,113], однако снизилась в Германии с 2005 до 2008 г. после введения ПКВ7 в 2006 г. [112]. Во многих странах Азии доля EPSN в изолятах 2000-2001 гг. была критически высока (до 88,3%), однако, как и для PSNP, этот показатель значительно варьировал в разных странах [99]. Доля ENSP возросла в Корее, Вьетнаме, Малайзии, Сингапуре и Китае, по сравнению с данными 1996-97 гг. Показатель МПК 90 также был высок (≥128 мг/л) в большинстве азиатских стран. Распространение штаммов с генами erm(B) и mef(A), которые ассоциированы с максимальной резистентностью к макролидам, также отличалось в разных странах. Erm(B) был наиболее распространен в Китае (76,9%), Шри Ланке (75,0%) и Тайване (70,9%), в то время как 21,6% изолятов содержали как erm(B), так и mef(A) [99]. Штаммы с сочетанием обоих генов демонстрировали высокий уровень

резистентности и к другим антибиотикам, таким как пенициллин, цефуроксим, тетрациклин, ко-тримоксазол и триметоприм [99,108,114,115]. Резистентность к эритромицину всегда коррелирует с резистентностью к азитромицину и кларитромицину, а также к другим антибактериальным препаратам этого класса. В странах Азии высокая резистентность к азитромицину (97,0%) и кларитромицину (96,4%) была ассоциирована с резистентностью к триметоприму-сульфаметоксазолу (TMP-SMX) (77,2%), клиндамицину (64,1%) и пенициллину (59,9%) [108].

Фторхинолоны

Резистентность к фторхинолонам составляет <5% в странах Европы и Северной Америки, но может быть несколько выше (до 11,8%) в некоторых странах Азии [116-118]. Национальное исследование в США опубликовало данные, свидетельствующие о стабильном росте резистентности к фторхинолонам с 1999 г. по 2004 г. [119], в то время как другое исследование сообщило о повышении доли лишь левофлоксацин-резистентных штаммов с 0,1% в 1998 г. до 0,6% в 2001 г. ($p = 0,008$), за которым последовало снижение до 0,4% в 2002 г. [117]. В исследованиях, проведенных в Гонконге, сообщается о том, что резистентность к фторхинолонам ограничена кругом лиц с предрасполагающими факторами, такими как пожилой возраст или внутрибольничная инфекция [120]. Похожие данные были получены и в Южной Африке: инфекции фторхинолон-резистентными штаммами поражали пациентов с лечением от туберкулеза в анамнезе ($p<0,001$) и с нозокомиальной инфекцией ($p<0,001$) [121,122].

Множественная лекарственная устойчивость

Как и резистентность к индивидуальным классам антибиотиков, множественная лекарственная резистентность (МУ), обычно определяемая как нечувствительность более чем к 3 классам антибиотиков, снизилась после введения вакцины ПКВ7 в национальную программу иммунизации. Однако активация невакцинных серотипов с МУ, таких как 19А, является предметом беспокойства. В США суммарный уровень ИПИ, вызванных МУ-штаммами, снизилась на 59% среди всех возрастных групп и на 84% среди детей младше 2 лет с 1999г. до 2004г.

Среди резистентных штаммов, выявленных у детей, доля МУ значительно снизилась как в изолятах крови (с 37,9% до 22,0%; p<0,001), так и других тканей (с 50,1% до 41,8%; p<0,001) [42]. Высокий уровень МУ пневмококков был отмечен в странах Азии (до 71,4%) с некоторыми вариациями в зависимости от региона [99,123,124].

1.4. Вакцинопрофилактика

Полисахаридная пневмококковая вакцина (ППВ23)

Каждый серотип характеризуется способностью взаимодействовать со специфическими антителами к капсульному антигену. Эти свойства пневмококка послужили основой для разработки серотип-специфической полисахаридной пневмококковой вакцины (ППВ), которая содержала выделенные полисахариды различных серотипов. В 1983 году была одобрена к использованию 23-валентная ППВ («Пневмо23»), которая на тот момент охватывала более 85% актуальных серотипов пневмококка, вызывающих ИПИ [125].

Полисахаридная 23-валентная вакцина содержит больше серотипов, чем любая другая доступная пневмококковая вакцина и потенциально охватывает более 85% серотипов, вызывающих ИПИ в различных странах мира [126]. Однако ее эффективность низка у детей младше 24 мес, т.е. в группе наивысшего риска ИПИ, так как в этом возрасте не вырабатываются в необходимом количестве антитела к полисахаридным антигенам [127].

Ballock и соавт. исследовали иммунологический ответ на ППВ23 у младенцев 12 месяцев, чтобы доказать, что данная вакцина потенциально более иммуногенна, чем считалось ранее [128]. Однако только у 21% детей наблюдалась адекватная реакция на серотипы 14 и 6В (два наиболее распространенных возбудителя ИПИ по всему миру), а имунный ответ на другие серотипы у большинства детей был недолговременным [128]. Более того, вакцинация ППВ23, проведенная до введения ПКВ, может привести к снижению активности ответа на последующие дозы ПКВ [129]. В настоящее время ППВ23 рекомендована лицам старше 2 лет, относящимся к группе риска ИПИ, после того как была завершена вакцинация

конъюгированными пневмококковыми вакцинами (например, дети с иммунодефицитом, бронхоэктатической болезнью легких и муковисцидозом и т.д.) [36].

Конъюгированная 7-валентная пневмококковая вакцина (ПКВ7)

ПКВ7 содержит капсульные полисахариды 7 серотипов пневмококка (6B, 9V, 14, 19F, 23F, 18C, 4) конъюгированных с белком CRM197 нетоксигенных коринебактерий дифтерии и вызывавших на момент создания вакцины до 86% случаев ИПИ. Первые из пяти перечисленных серотипов в составе вакцинных, по данным исследований, относились к числу наиболее резистентных пневмококков [130]. После введения вакцинации ПКВ7 в разных странах наблюдалось снижение носительства вошедших в вакцину серотипов, что оказало существенное влияние на уровень резистентности среди пневмококков (см. выше).

Продолжительное исследование ИПИ в США показало, что введение в 2000 г. вакцинации ПКВ7 привело к существенному спаду общей заболеваемости ИПИ, а также ИПИ, вызванных резистентными штаммами *S. pneumoniae* [131]. В крупном проспективном исследовании в США в течение периода более 9 лет проводился мониторинг всех педиатрических случаев ИПИ в 8 больницах, где частота выявления пенициллин-резистентных штаммов пневмококка увеличивалась каждый год и на 2001 год составила 45%. После введения ПКВ7 доля ИПИ, обусловленных этими штаммами, снизилась до 33% уже в 2002 г. [132]. В другом исследовании также было показано снижение частоты пенциллин-резистентных штаммов в основе ИПИ у детей с 58,8% в 1999г. до 30,4% в 2002 г. Возбудители ИПИ, резистентные к цефалоспоринам и эритромицину, после введения вакцинации ПКВ7 также стали встречаться реже [133].

4.3. Смена активных серотипов после введения ПКВ7

Результаты исследования «Active Bacterial Core» продемонстрировали что выраженный спад частоты ИПИ, вызванных вакцинными и родственными им серотипами, сопровождался незначительным повышением частоты ИПИ, вызванных серотипами, не вошедшими в ПКВ7, в особенности это касалось серотипа 19A [134]. Серьезную обеспокоенность вызывал также тот факт, что из >

90 серотипов пневмококка в ПКВ7 входит только семь серотипов, ассоциированных с детскими инфекциями в США и других развитых странах до введения вакцины. Таким образом, в популяции продолжало циркулировать большое число серотипов, против которых вакцина не эффективна. В этой ситуации создается ниша для повышения активности новых серотипов – феномен, названный «заменой серотипов» (в англ. литературе – «serotype replacement»), который неизбежен при использовании такого многообразного антигена, как капсульный полисахарид.

В США после введения вакцинации ПКВ7 выросла частота носительства и заболеваемости ИПИ, связанные с серотипом 19А. Такая замена совпала с повышением резистентности к пенициллину и другим антибиотикам штаммов 19А. К 2006 году этот серотип стал наиболее частой причиной резистентных к лекарственной терапии ИПИ [135]. С 1998г. заболеваемость ИПИ, вызванных 19А, увеличилась с 0,8 случаев до 2,5 случаев на 100 тыс населения, а частота пенициллин-резистентных 19А-обусловленных ИПИ увеличилась с 6,7% до 35% [136]. Однако, не все «заменные» серотипы ассоциированы с антибактериальной резистентностью. Например, частота выявления носительства серотипа 11А значительно возросла после введения ПКВ7, тем не менее резистентных штаммов этого серотипа практически не регистрируется [137]. В Англии также отмечается увеличение частоты выявления ИПИ, вызванных невакцинными штаммами пневмококка, после введения ПКВ7. Главными «заменными» серотипами стали 7F, 19A и 22F; изменений в уровне резистентности среди данных серотипов не наблюдалось [138].

Yildirim I. и соавт. сравнили частоту поражения ИПИ и серотиповое разнообразие инфекций среди детей младше 18 лет в период с 2001 по 2006 и с 2007 по 2010 (ранний и поздний периоды после введения вакцинации ПКВ7 в США). Общая заболеваемость ИПИ не различалась значительно между двумя периодами времени и составила примерно 7.5 случаев на 100 тыс населения, однако доля бактериальной пневмонии среди всех ИПИ в период 2009-2010 гг. в 3 раза превысила таковую в более ранние годы. Доля ИПИ, вызываемых серотипами 19А

и 7F, значительно возросла в отсроченный период после введения ПКВ7 и составила 41% и 20% всех ИПИ, соответственно[139]. Эти факты и привели в дальнейшем к созданию ПКВ с более широким спектром серотипов.

Конъюгированные 10- и 13-валентныя пневмококковые вакцины (ПКВ10 и ПКВ13)

Необходимость введения конъюгированных пневмококковых вакцин с более широким спектром серотипов, чем в ПКВ7, была продиктована повышением заболеваемости ИПИ, вызванных серотипами, не входившими в состав ПКВ7.

ПКВ7 сыграла важную роль в снижении заболеваемости пневмококковыми инфекциями в мире, однако в некоторых регионах, особенно в развивающихся странах, ПКВ7 обеспечивает защиту от <50% возбудителей ИПИ [140]. Более широкий спектр серотипов содержат 10-валентная конъюгированная вакцина (ПКВ10; Синфлорикс, ГлаксоСмитКляйн) и ПКВ13 («Превенер13», Пфайзер).

В дополнение к серотипам, содержащимся в ПКВ7, ПКВ10 содержит серотипы 1, 5, 7F. ПКВ10 также содержит протеин D из нетипируемой *H. influenzae*. Предполагается, что этот дополнительный компонент должен снизить уровень заболеваемости среднего отита, вызванного нетипируемой H. Influenzae.

Для того чтобы обеспечить профилактику от более широкого спектра возбудителей была создана вакцина ПКВ13. ПКВ13 химически устроена идентично ПКВ7, но включает в себя дополнительные серотипы пневмококка: 1 3, 5, 6A, 7F и 19A [141]. В 2014 г. Wroe и соавт. опубликовали данные об изменении спектра носительства серотипов пневмококка после введения вакцинации ПКВ13 с 2012 по 2014 гг. [142]. Частота выявления носительства 6 дополнительных серотипов, включенных в ПКВ13, была ниже у детей, вакцинированных ПКВ13, чем у детей, вакцинированных ПКВ7. Уровень носительства в наибольшей степени снизился для серотипа 19A. Самым распространённым резистентным к антибиотикам серотипом оказался 6C (17.2%) [143].

Серотипы 1 и 5 были включены в ПКВ, так как они являются причиной приблизительно 10% ИПИ во многих странах и почти трети случаев ИПИ в Африке. Включение этих серотипов необходимо для снижения заболеваемости

ИПИ среди детей во всем мире. Благодаря активным действиям Глобального альянса по вакцинам и иммунизации (GAVI) и Планам ускоренной разработки и внедрения пневмококковых вакцин (PneumoADIP) вакцины ПКВ10 и ПКВ13 стали доступны многим странам с низким развитием системы здравоохранения уже в течение первого года после их разработки и по значительно меньшей цене, чем в развитых странах. В 2011 году такие страны как Кения и Сьерра-Леоне ввели вакцинацию ПКВ13 в свои национальные программы вакцинопрофилактики.

Имунногенность пневмококковой вакцины – это способность хозяина вырабатывать IgG против серотипо-специфических полисахаридных капсул пневмококка. Согласно данным рандомизированного контролируемого исследования вакцин ПКВ7 и ПКВ10, Всемирная организация здравоохранения установила, что надежным иммунологическим ответом против какого-либо серотипа пневмококка считается титр антикапсульных IgG через 4 недели после вакцинации ≥ 0.35 мкг/мл и титр антител с опсонофагоцитарной активностью ≥ 1:8 (способность антител стимулировать нейтрофилы к фагоцитозу пневмококков) [144].

При вакцинации можно предположить вероятность перекрестной имуннологической реактивности, а, следовательно, и формирование перекрестного иммунитета, против близкородственных серотипов пневмококка. Серотипы 6A и 19A не были включены в ПКВ7, так как предполагалось, что для этих серотипов может сформироваться кросс-реактивность с 6B и 19F, входившими в состав ПКВ7 [140,145]. Однако, даже если кросс-реактивность наблюдается in vitro, такая же реакция может не развиться in vivo, как и произошло с серотипом 19A, активность которого значительно повысилась после введения ПКВ7, несмотря на то что вакцина содержала родственный серотип 19F. Иммунологическая кросс-реактивность, тем не менее, была продемонстрирована между 6A (содержится в ПКВ13) и 6C [145].

Согласно определению ВОЗ высокую иммуногенность продемонстрировали как ПКВ10, так и ПКВ13, обе вакцины стимулируют достаточный иммунитет для

профилактики инфекционных заболеваний, вызванных дополнительными серотипами, включенными в вакцины [7,146,147].

Заключение

Несмотря на имеющиеся в арсенале для борьбы с пневмококковой инфекцией эффективные антибактериальные препараты, согласно позиции ВОЗ ***«... вакцинация – единственный способ существенно повлиять на заболеваемость пневмококковой инфекцией. Повышение уровня антибиотикорезистентности особенно подчеркивает значимость иммунопрофилактики»*** [4]. При этом акцентируется, что максимальный защитный эффект достигается при вакцинации всех детей до 2 лет, а не только групп риска. Во многих странах мира пневмококковая вакцинация включена в национальные прививочные календари, доказывая свою эффективность через существенное снижение пневмококк-ассоциированной заболеваемости [6,7].

Существующие пневмококковые вакцины не покрывают весь спектр полисахаридов пневмококка. Они включают полисахариды только тех серотипов, которые по результатам эпидемиологических исследований оказываются в числе возбудителей большинства *S. pneumoniae*-ассоциированных заболеваний.

Поскольку спектр серотипов может отличаться на разных территориях [6,148,149], информация об актуальном серотиповом распределении пневмококка и его изменениях во времени является одним из главных факторов для успешного внедрения пневмококковой вакцинации в любой стране.

ГЛАВА 2. ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая структура и характеристика этапов исследования

В соответствии с поставленной целью основой данной работы явилось определение циркулирующих серотипов *S. pneumoniae* и их чувствительности к антибиотикам у здоровых носителей и детей в возрасте до 5 лет с острыми респираторными бактериальными инфекциями (рис. 2.1).



Рис.2.1. Дизайн исследования

Исследование носительства S. pneumoniae у здоровых детей младшего возраста

Дизайн исследования: открытое сравнительное исследование.

Участники исследования: организованное и неорганизованное детское население г. Москвы.

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 проводилось в период с февраля 2013 г. по февраль 2014 г. на базе отделения неотложной педиатрии ФГБНУ НЦЗД, в поликлиниках ЮЗАО г. Москвы при профилактических осмотрах воспитанников детских садов и при проведении диспансеризации в детском доме в ЮЗАО г. Москвы. Исследование микрофлоры носоглотки осуществляли рутинно, в процессе оториноларингологического осмотра при диспансеризации детей из детских садов и детского дома. У пациентов документировали возраст, вакцинальный статус, прием антибиотиков в течение последних 3 месяцев до взятия образца.

Сбор образцов биоматериала:

Носоглоточные 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.

Исследование этиологической роли и носительства S. pneumoniae у детей до 5 лет с острыми респираторными бактериальными инфекциями, госпитализированных в стационары г. Москвы

Дизайн исследования: многоцентровое открытое исследование.

Участники исследования: дети до 5 лет, госпитализированные в стационары г.Москвы по поводу острой респираторной бактериальной инфекции.

Условия проведения:

Исследование проводилось в период 2011 - 2012 гг. на базе стационаров г.Москвы: ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Морозовской детской городской больницы №1, детской городской клинической больницы №9, детской городской клинической больницы №13, детской инфекционной больницы №6. У

пациентов документировали возраст, вакцинальный статус, прием антибиотиков в течение последних 3 месяцев до взятия образца, а также сведения о начатой антибактериальной терапии по поводу данного эпизода острой инфекции.

Критерии соответствия:

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Госпитализация в стационар, участвующий в исследовании.
2. Время после поступления < 24 часов.
3. Установленный диагноз острой бактериальной инфекции: сепсис, менингит, бактериемия, внебольничная пневмония, острый средний гнойный отит, острый гнойный синусит.

Критерии исключения из исследования:

1. Предшествующая антибактериальная терапия > 2 доз антибиотика.
2. Диагностированная инфекция мочевыводящих путей.
3. Диагностированная острая кишечная инфекция.

Сбор образцов биоматериала:

Для получения достоверных данных о распространенности пневмококовой инфекции и серотипов *S pneumoniae* в данном исследовании были взяты образцы биоматериала из стерильных (кровь, ликвор, жидкость среднего уха) и нестерильных (отделяемое из среднего уха, назофарингеальный мазок) локусов у детей с клиническими признаками острой бактериальной инфекции, поступающих в многопрофильные стационары лечебных учреждений г.Москвы. Образцы отбирали с помощью набора eSWAB Collection Kit (Copan Diagnostics, Италия), состоящего из зонда и контейнера с транспортной средой.

Полученные образцы доставлялись в микробиологическую лабораторию ФГБНУ «Научный центр здоровья детей» ежедневно специальной курьерской службой с соблюдением температурного режима и других правил транспортировки.

Исследование бактериальной этиологии острого среднего отита у детей младшего возраста

Образцы жидкости среднего уха (ЖСУ) были получены в период 2011-2012 гг. в 5 педиатрических стационарах г. Москвы в ходе проспективного исследования (см. выше). Все штаммы микроорганизмов выделены из образцов ЖСУ, собранной путем тимпаноцентеза или через отверстие в барабанной перепонке при спонтанной оторее у пациентов с острым средним отитом (ОСО) в возрасте ≤5 лет.

У пациентов с ОСО положительным культуральным результатом считали выделение из ЖСУ этиологически значимых бактерий, к которым относили *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* [150;194,197]. Отрицательным культуральным результатом считали отсутствие бактериального роста или рост другой (этиологически незначимой) микрофлоры. Случай микробиологически подтвержденного бактериального ОСО определяли как эпизод ОСО, при котором у пациента с одно- или двусторонним процессом из одного или обоих образцов ЖСУ был выделен значимый возбудитель в виде монокультуры или в ассоциации. При наличии в ЖСУ у одного пациента двух и более видов патогенов каждый патоген считали этиологически значимым и учитывали при расчете его доли в структуре этиологии ОСО.

2.2. Методы исследования

Микробиологические методы исследования

Для микробиологического анализа использовали 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 мкг/мл НАД, который добавляли в предварительно охлажденную до 50-60°С среду.

Посевы инкубировали в термостате с повышенным содержанием CO_2 (5%) при температуре 37°С в течение 24 - 48 ч.

Значимыми условно-патогенными бактериями считали *S. pneumoniae, H. influenzae, S. pyogenes, M. catarrhalis* и *S. aureus* [14,151,152]. Идентификацию пневмококка проводили на основании морфологических и культуральных свойств, а также с помощью теста с оптохином и реакции латекс-агглютинации (Slidex Pneumo-Kit, BioMerieux, Франция). Пневмококковые изоляты хранили в бульоне (Nutrient Broth, HiMedia, Индия) с добавлением 17% глицерина при – 80°С.

Выделенные культуры *H. influenzae* идентифицировали на основании изучения морфологии, культуральных свойств, потребности в факторах роста X и V в системе API NH. Бета-гемолитические стрептококки (*S. pyogenes*) дифференцировали по чувствительности к бацитрацину (Bacitracin, 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 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany; MALDI Biotyper).

Серологическое типирование *S. pneumoniae* проводили в реакции латексной агглютинации и/или реакции набухания капсулы по Нейфельду. Для этого использовали набор «ImmuLex™ Pneumotest kit» (Statens Serum Institut, Дания). Реакцию набухания капсулы определяли с помощью фазовоконтрастной микроскопии при 1000-кратном увеличении. Нетипируемыми считали изоляты пневмококка, которые не агглютинировались ни одной из пуловых сывороток (пулы A-I и P-T).

Определение чувствительности к антибиотикам

Для определения чувствительности 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 [153]. Чувствительными 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 мкг/мл, нечувствительными к пенициллину – штаммы с МПК ≥ 0,06 мкг/мл. Результаты интерпретировали согласно обновленным рекомендациям EUCAST (2013 г.) [154].

Молекулярно-генетические методы

Молекулярное серотипирование пневмококков проводили с помощью мультиплексной ПЦР (М-ПЦР). Для этого использовали праймеры для следующих серотипов/серогрупп: 1, 3, 4, 5, 6A/B, 7F, 7C, 8, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15A, 15B/C, 16F, 17F, Sg18, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 31, 33F, 34, 35F, 38 (Pai R., 2006).

Разделение и детекцию продуктов амплификации проводили с помощью горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле.

Экстракцию ДНК из образцов ЖСУ проводили с помощью набора QIAamp DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Izasa, Барселона, Испания) в соответствии с протоколом, предоставленным производителем. В ЖСУ проводили поиск генетического материала четырех этиологически значимых отопатогенов (*S. pneumoniae, S. pyogenes, H. influenzae* и *M. catarrhalis*) с помощью ПЦР в реальном времени.

Выделение ДНК из чистой культуры S. pneumoniae и детекцию генов резистентности к макролидам *ermB* и *mef* у эритромицин-резистентных пневмококков проводили при помощи ПЦР с использованием праймеров, предложенных Reinert R. et al (2008).

Мультилокусное сиквенс-типирование

Мультилокусное сиквенс-типирование (МЛСТ) пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам (т.е. устойчивостью к 3 или 4 исследованным антибиотикам) проводили согласно протоколу [155]. Внутренние фрагменты генов *aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt* и *ddl* амплифицировали путем ПЦР с помощью описанных праймеров, а затем полученные ампликоны секвенировали. Аллели и сиквенс-типы (ST) определяли с помощью программного обеспечения на web-странице пневмококка [156]. Сиквенс-типы анализировали и относили к клональным комплексам после их сравнения со всеми сиквенс-типами, имеющимися в онлайн-базе данных, используя программу eBURST [156]. Сиквенс-типы, имеющие 6 одинаковых аллельных вариантов из 7 исследованных локусов относили к одному клональному комплексу.

2.3 Этическая экспертиза

У законных представителей всех включенных в исследование пациентов было получено информированное подписанное согласие на проведение диагностических и лечебных процедур при госпитализации в стационар или амбулаторном визите к врачу в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

2.4. 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 $p < 0{,}05$.

Вероятность определения этиологии ОСО по результатам микробиологического исследования носоглоточного мазка оценивали с помощью расчета посттестовых шансов (Посттест-Ш) высева в ЖСУ и носоглотке идентичного патогена [157,158]. Для каждого возбудителя составляли таблицу сопряженности и в столбцы вносили результаты посева ЖСУ (референсное

исследование, «золотой стандарт»), а в строки – результаты посева носоглоточного материала (индексный тест). Затем рассчитывали отношение правдоподобия (ОП) как отношение вероятности высева патогена в ЖСУ (доля истинноположительных результатов) к вероятности высева этого же патогена только в носоглотке при его отсутствии в ЖСУ (доля ложноположительных результатов). Полученное значение ОП использовали для определения Посттест-Ш совпадения результатов посева ЖСУ и материала из носоглотки по формуле: Посттест-Ш = претестовые шансы (Претест-Ш) х ОП. Претест-Ш рассчитывали, исходя из претестовой вероятности, т.е. доли конкретного патогена в этиологической структуре ОСО с учетом отрицательных культуральных результатов по формуле: Претест-Ш = претестовая вероятность / (1 - претестовая вероятность). Посттест-Ш конвертировали в посттестовую вероятность по формуле: посттестовая вероятность = Посттест-Ш х (1 + Посттест-Ш).

ГЛАВА 3. НОСОГЛОТОЧНОЕ НОСИТЕЛЬСТВО *S. PNEUMONIAE* У ВОСПИТАННИКОВ ДЕТСКИХ ДОМОВ, ДОШКОЛЬНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ И НЕОРГАНИЗОВАННЫХ ДЕТЕЙ МЛАДШЕ 5 ЛЕТ

Поскольку носительство *S. pneumoniae* является основной предпосылкой распространения пневмококковых болезней, необходимо динамическое наблюдение за спектром циркулирующих серотипов. Для оценки эффективности вакцинопрофилактики необходимо учитывать соответствие их состава серотипам, циркулирующим в каждом конкретном регионе. Не менее важен мониторинг антимикробной резистентности *S. pneumoniae*. Эмпирическая антибактериальная терапия должна основываться на региональных данных о чувствительности микрофлоры.

В открытом сравнительном исследовании был исследован микробный спектр при носоглоточном носительстве у здоровых воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей младше 5 лет, и проведен анализ серотипового разнообразия и антимикробной резистентности *S. pneumoniae*.

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

Проведено исследование микрофлоры носоглотки у 246 детей в возрасте до 5 лет, из них 76 не посещали детских дошкольных учреждений (неорганизованные дети), 144 ребенка посещали детский сад, 26 детей являлись воспитанниками детского дома (табл. 3.1). Все включенные в исследование дети не имели признаков респираторной инфекции и не получали антибактериальных препаратов в течение недели, предшествовавшей осмотру (см. главу «Пациенты и методы»). Вакцинопрофилактика гемофильной и пневмококковой инфекций у детей до включения в исследование не проводилась.

Таблица 3.1. Характеристика детей, включенных в исследование

Показатели	**Неорганизованные дети (n = 76)**	**Воспитанники детского сада (n = 144)**	**Воспитанники детского дома (n = 26)**
Возраст, мес*	22 (15; 34)	43 (35; 50)	18,5 (12; 30)
Антибактериальная терапия**, абс. (%)	16 (21)	34 (24)	нет данных

Примечание.

* - данные представлены в виде Me (25 перцентиль; 75 перцентиль)

** - хотя бы один курс в течение 3 мес до включения в исследование.

Таблица 3.2. Антибактериальные препараты, назначавшиеся детям в предшествовавшие исследованию 3 месяца

Антибактериальные препараты	**Неорганизованные дети (n = 76)**		**Дети, посещающие детский сад (n = 144)**		**Всего назначений антибиотиков**	
	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 (цефуроксим)	2	2,7	2	1	4	8
III поколение (цефтриаксон, цефиксим)	5	6,3	12	8	17	33
Итого	***16***	***21***	***34***	***24***	***51***	***100***

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

Спектр антибактериальных препаратов, которые получали дети в связи с острыми респираторными заболеваниями в предшествующие исследованию 3 месяца, представлен в табл. 3.2. Большинство детей (45%, 23/51) лечились антибиотиками цефалоспоринового ряда, среди которых преобладали препараты III поколения. Макролиды составили одну четверть (26%, 13/51) в спектре назначений, при этом более чем в половине случаев рекомендовался азитромицин. Аминопенициллины получали 29% (15/51) детей, предпочтение в этих случаях отдавалось амоксициллину/клавуланату.

Всего было собрано 246 носоглоточных образцов, при этом в 33% (82/246) случаев отмечен рост нормальной микрофлоры. Нормофлора была представлена преимущественно коагулазонегативными стафилококками, зеленящими стрептококками, различными видами энетробактерий. У детей, не посещающих дошкольные учреждения, нормальная микрофлора высевалась в 52% (40/76) случаев, т.е. почти в два раза чаще, чем у детей из детских садов (29%, 42/144). Примечательно, что у детей из закрытого коллектива (детский дом) ни в одном случае не было выявлено роста потенциально непатогенной микробиоты в отличие от детей из детских садов и неорганизованных детей (табл. 3.3).

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

У 20% (48/246) обследованных детей в носоглоточных образцах зафиксирован одновременный рост 2 или 3 видов бактерий. Частота роста смешанной флоры была существенно ниже у неорганизованных детей (8%, 6/76) по сравнению с обследованными из детских садов (19%, 27/144) и детьми из детского дома (58%, 15/26; $p < 0,01$). В целом, наиболее часто встречались ассоциации *S. pneumoniae* с *H. influenzae* (n=12), *S. pneumoniae* с *M. catarrhalis* (n=12), реже выявлялись комбинации *H. influenzae* и *M. catarrhalis* (n=7), а также *S.*

pneumoniae, H. influenzae и *M. catarrhalis* (n = 7). В 10 случаях в комбинациях участвовал *S.aureus*.

Для сравнения долей бактерий в микробном спектре назофаринегальных образцов мы учитывали абсолютное число штаммов респираторных патогенов в положительных культурах (см. табл. 3.3). 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).

Таблица 3.3. Микробный спектр при носоглоточном носительстве у детей в возрасте до 5 лет

Микрофлора	**Неорганизованные дети (n = 76)**		**Дети, посещающие детский сад (n = 144)**		**Дети из детского дома (n = 26)**		**Всего штаммов**
	Абс.	**%**	**Абс.**	**%**	**Абс.**	**%**	
S. pneumoniae	13	15*#	49	26	10	24	**72**
H. influenzae	6	7*#	34	18	11	27	**51**
M. cattarhalis	11	13*#	42	23#	18	44	**71**
S. aureus	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

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 детей из детского сада и детского дома (24%, 10/26и 26%, 49/144 соответственно). Доля *H. influenzae* и *M. catarrhalis* при этом была значимо выше в спектре носоглоточного носительства у детей из детского дома (рис. 3.1).

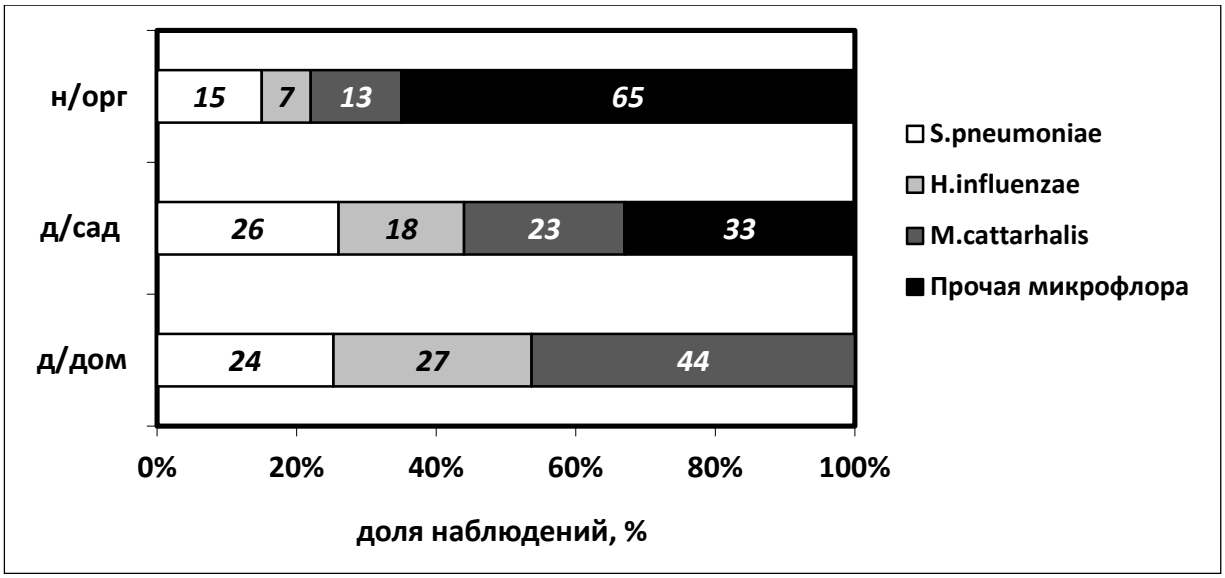


Рис. 3.1. Значимые респираторные патогены в структуре микробного пейзажа носоглотки у обследованных детей

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

Различия в спектре выявленных патогенов в зависимости от предшествующей антибактериальной терапии у обследованных детей не обнаружены.

Анализ возрастных особенностей носоглоточного носительства респираторных патогенов показал преобладание в спектре на первом году жизни *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis* (рис. 3.2). Доля изучаемых патогенов у детей старше 12 месяцев существенно не различалась.

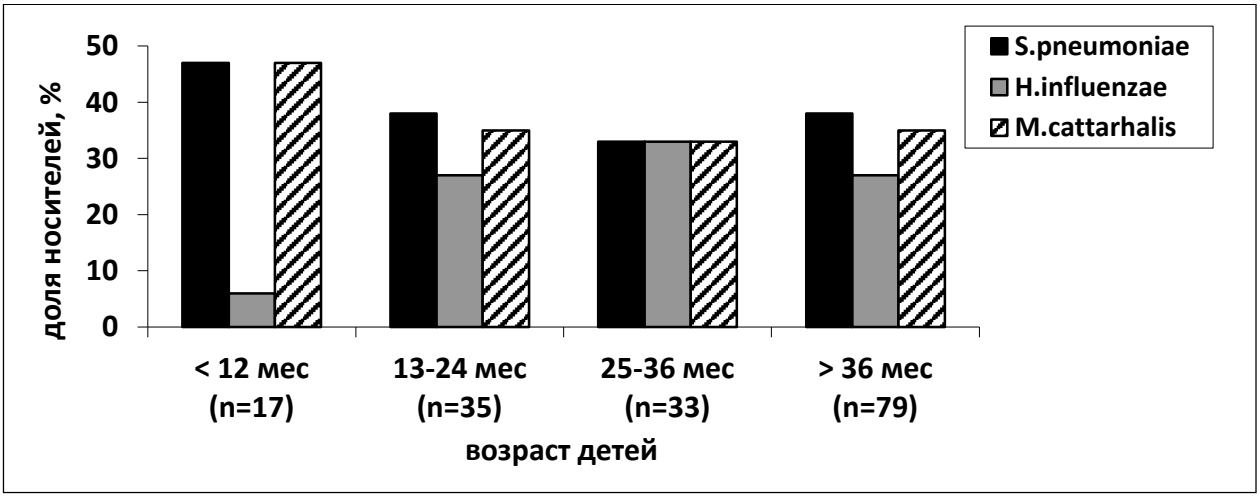


Рис. 3.2. Возрастные особенности носоглоточного носительства респираторных патогенов у детей в возрасте до 5 лет

Таким образом, проведенное исследование показало высокую частоту носоглоточного носительства условно-патогенной микрофлоры у детей из закрытых и полузакрытых детских коллективов, что объясняется большим числом и плотностью контактов со сверстниками. Рост потенциально непатогенной флоры (мы обозначили ее как нормофлору) отмечен у половины неорганизованных детей (52%), у трети детей из детских садов (29%) 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 у 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%). Наши данные согласуются с результатами других исследований, проведенных в различные годы, которые показывают, что частота носительства пневмококка является стабильной в до- и поствакцинальную эпоху. Так, по данным литературы, распространенность носоглоточной колонизации пневмококком у детей до 5 лет оценивается в диапазоне 23 – 56% [30-32].

Частота выявления значимых 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 двумя другими группами обследованных носителей. Эти факты свидетельствуют о более активном «обмене» респираторными патогенами между воспитанниками детских коллективов.

Большинство исследований свидетельствуют, что пик пневмококкового носительства приходится на первые три года жизни [12,27]. Возраст, в котором наблюдается колонизация носоглотки *H. influenzae*, по данным различных авторов отличается более широким диапазоном, по сравнению с пневмококком [159,160]. Носительство *S. pneumoniae* и *H. influenzae* уменьшается к подростковому возрасту. Колонизация носоглотки *S. aureus* наиболее распространена в периоде новорожденности и в возрасте 10 лет [14,161].

В нашем исследовании носоглоточное носительство *H. influenzae* отмечено преимущественно у детей старше 1 года, тогда как *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis* выявлялись в носоглоточных мазках в большом количестве на протяжении всего раннего возраста. Ни в одном образце мы не выявили роста *S. pyogenes*, который является значимым патогеном у детей при бактериальных респираторных инфекциях, в частности при острых средних отитах, как это было показано в предыдущих исследованиях [151,162]. Бессимптомное носительство бета-гемолитического стрептококка группы А распространено у детей старшего дошкольного возраста и школьников, в этом возрасте оно достигает 12% [163]. 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 количеством контактов и возможностью передачи респираторных патогенов у «коллективных» детей.

3.2. Серотиповое разнообразие *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве у здоровых детей в возрасте до 5 лет

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. 3.4). Наиболее часто выявлялся вариант 19F, его доля в серотиповом спектре составила 28%.

Таблица 3.4. Серотипы *S. pneumoniae* при носоглоточном 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***	

Спектр выделенных серотипов пневмококка в обследованных группах детей существенно различался. В частности, наибольшее серотиповое разнообразие *S. pneumoniae* было обнаружено у детей, посещавших детский сад (рис. 3.3). У воспитанников детского дома (коллектив закрытого типа) было выявлено всего два серотипа пневмококка (19F и 23F), что наиболее вероятно обусловлено передачей штаммов, относящихся к этим серотипам, внутри закрытой группы детей.

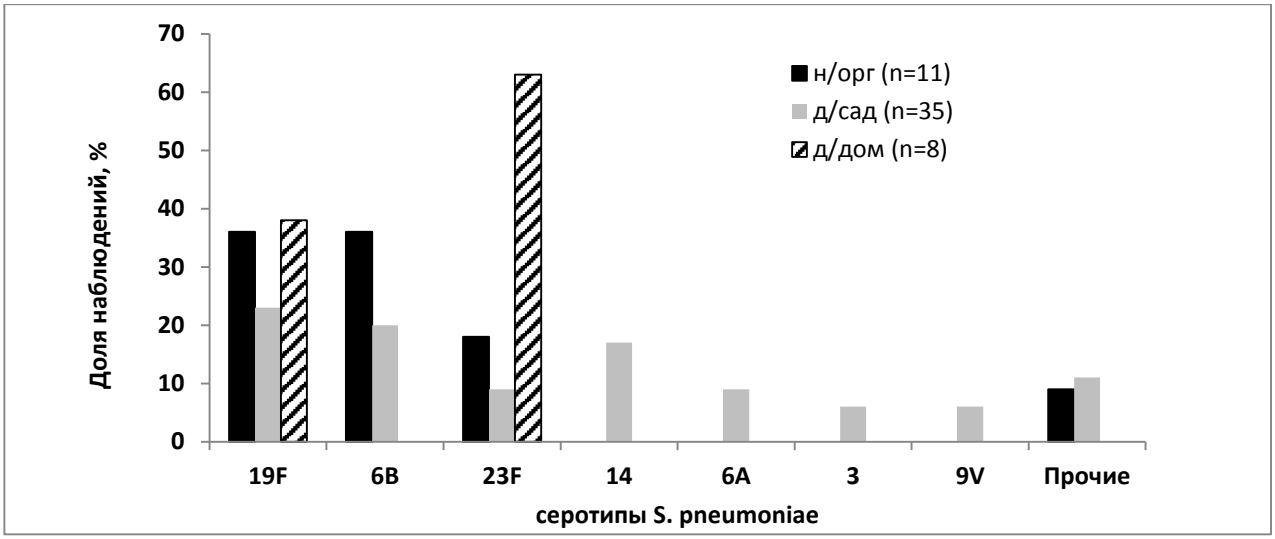


Рис. 3.3. Носоглоточное носительство различных серотипов *S. pneumoniae* в обследованных группах детей

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

Анализ серотипового разнообразия у детей разного возраста показал, что в возрасте до 2 лет жизни преобладал серотип 19F, часто встречались серотипы 6B, 23F и 14 (рис. 3.4). У детей третьего года наиболее часто выявлялся серотип 23F (> 30%), далее - 19F и 6B. В возрасте от 3 до 5 лет частыми серотипами были 19F, 6B, 14, реже выделялись 23F и 6A.

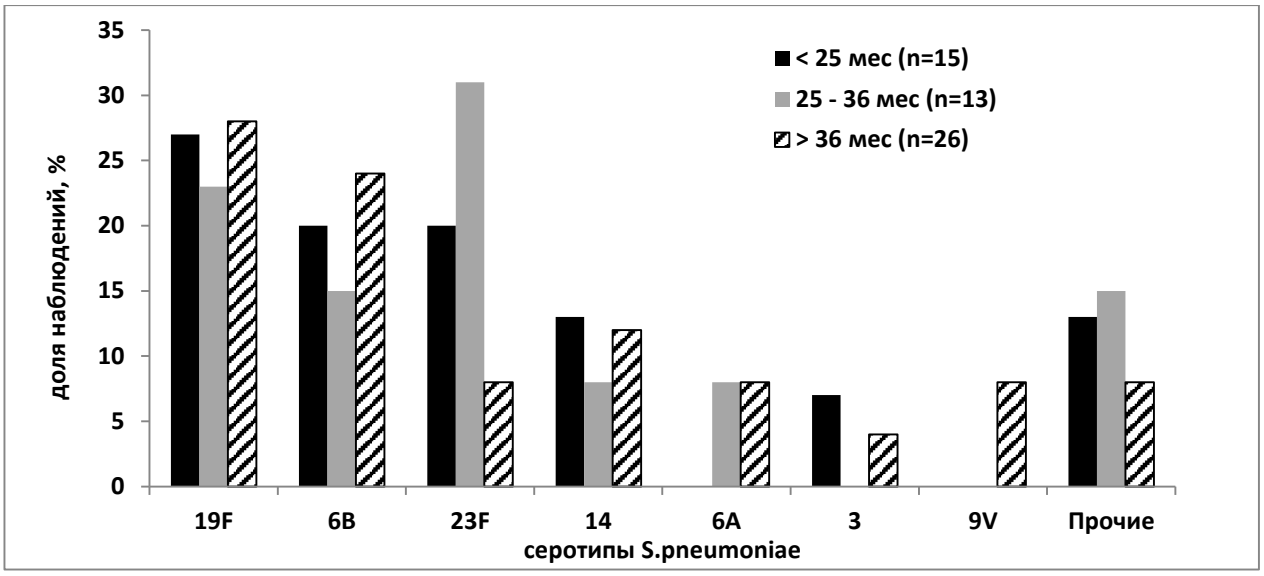


Рис. 3.4. Носоглоточное носительство различных серотипов *S. pneumoniae* у детей разного возраста

Таким образом, 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%.

Ранее, в 2007 – 2009 гг., в многоцентровом исследовании, проведенном в 18 городах РФ, при исследовании 584 штаммов пневмококков, выделенных от детей первых пяти лет жизни с различными клиническими формами инфекции и носителей, было показано, что на долю серотипов *S. pneumoniae*, входящих в состав 13-валентной конъюгированной вакцины, приходится 80,7% штаммов [164]. Преобладающими при этом были перечисленные выше серотипы при лидирующей позиции 19 серогруппы. Учитывая отсутствие массовой вакцинации от пневмококка в нашей стране[1], исследования, проведенные в Москве и Санкт-Петербурге с 2010 года, а также исследования в 1990-е годы показывают, что спектр серотипов *S. pneumoniae* у носителей остался стабильным. Серотипы пневмококка, выделенные из респираторного тракта у больных острой внебольничной пневмонией, согласно российским исследованиям, как в 1990 г., так

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

и в последние годы, на 80% представлены одинаковой структурой, несколько различаясь в частоте отдельных штаммов в разные периоды [165-167]. Изменение спектра распространенных серотипов пневмококка можно ожидать при введении массовой вакцинации в РФ.

3.3. Антибиотикорезистентность исследованных штаммов *S. pneumoniae* и анализ молекулярных механизмов устойчивости к макролидам

Чувствительность к антибиотикам была протестирована у 67 штаммов *S. pneumoniae*. В панель исследованных антибиотиков вошли бета-лактамы (оксациллин, пенициллин, амоксициллин), макролиды (эритромицин, азитромицин, кларитромицин, спирамицин), клиндамицин и триметоприм/сульфаметоксазол (ТМП/СМЗ). Резистентность исследуемых штаммов пневмококка к различным группам антибиотиков варьировала от 31% до 60%. Наибольшая устойчивость была отмечена к ТМП/СМЗ (табл. 3.5).

Общую чувствительность к бета-лактамам оценивали путем тестирования чувствительности к оксациллину с помощью диско-диффузионного метода. Резистентностью к оксациллину обладали 48% (32/67) изолятов пневмококка. Последующий анализ с использованием Е-теста показал, что все оксациллин-резистентные пневмококки были нечувствительны к пенициллину (МПК >0,06 мкг/мл) (см. табл. 3.5), т.е. доля нечувствительных к пенициллину штаммов также составила 48%. МПК пенициллина ≥2 мкг/мл наблюдалась у 7% (5/67) штаммов.

МПК амоксициллина была определена для всех 32 оксациллин-резистентных изолятов. У 60%(19/32) штаммов МПК амоксициллина составила ≤0,5 мкг/мл, у 2 штаммов МПК была 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 изолят – к серотипу 14, и серотип еще одного штамма был неизвестен.

Уровень резистентности исследованных штаммов пневмококка к макролидным антибиотикам достигал 40% (см. табл. 3.5). Для 14- и 15-членных макролидов (эритромицин, азитромицин, кларитромицин) он не различался, что было обусловлено едиными для всех антибиотиков этой группы механизмами антимикробной устойчивости (см. ниже). Обращает внимание, 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.

Таблица 3.5. Устойчивость штаммов *S. pneumoniae* к антибиотикам

Серотип	n	Нечувствительные штаммы, n								
		PEN	AMO	ERY	AZI	CLA	SPI	TMP/SMX	CLI	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. PEN – пенициллин; AMO – амоксициллин; ERY – эритромицин; AZI – азитромицин, CLA – кларитромицин, SPI – спирамицин, TMP/SMX – триметоприм/сульфаметоксазол, CLI – клиндамицин, МУ – множественная устойчивость (устойчивость к 3 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 оксациллин-резистентных штаммов (n=32), для всех МПК пенициллина составила > 0,06 мкг/мл.

***МПК амоксициллина у 6 оксациллин-резистентных штаммов составила > 2 мкг/мл.

Для уточнения механизмов резистентности к макролидам у 23 из 27 макролид-резистентных изолятов при помощи ПЦР было проведено исследование генов *erm(B)* и *mef* (табл. 3.6). Основным молекулярным механизмом, обусловливающим резистентность к макролидам за счет модификации (метилирования) мишени и невозможности связывания антибиотика с рибосомой, является наличие у пневмококка гена *erm(B)*. Носителями гена *erm(B)* были более 90% (21/23) эритромицин-резистентных

штаммов, что определяло их конститутивный MLS_B-фенотип, т.е. одновременную устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам, стрептограмину В (табл. 3.6).

Таблица 3.6. Генетические детерминанты резистентности к макролидам у выделенных штаммов *S. pneumoniae* (n = 23)

Гены резистентности	**Число штаммов**	**%**
ermB+	17	74
mef+	2	9
ermB+/*mef*+	4	17
Всего	***23***	***100***

Ген *erm(B)* встречался у 74% (17/23) штаммов, в сочетании с геном эффлюкса *mef* – еще у 4 (7%) пневмококков. Только 2 из 23 эритромицин-резистентных штаммов были носителями только гена *mef* (см. табл. 3.6). Большинство макролид-резистентных 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).

Набольшая 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 составил 60% (9/15). Более 80% пневмококков серотипа 14 были нечувствительными к пенициллину, макролидам, клиндамицину и ТМП/СМЗ. Выявленный в нашем исследовании сравнительно высокий уровень нечувствительности к амоксициллину обусловили 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 тестированным антибиотикам.

Среди исследованных штаммов пневмококка множественной устойчивостью (т.е. устойчивостью к 3 и более классам антибиотиков) 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 в 2 раза чаще выявлялись у детей из закрытых или полузакрытых детских коллективов (по 50% в каждой группе) по сравнению с неорганизованными детьми (25%) (рис. 3.5).

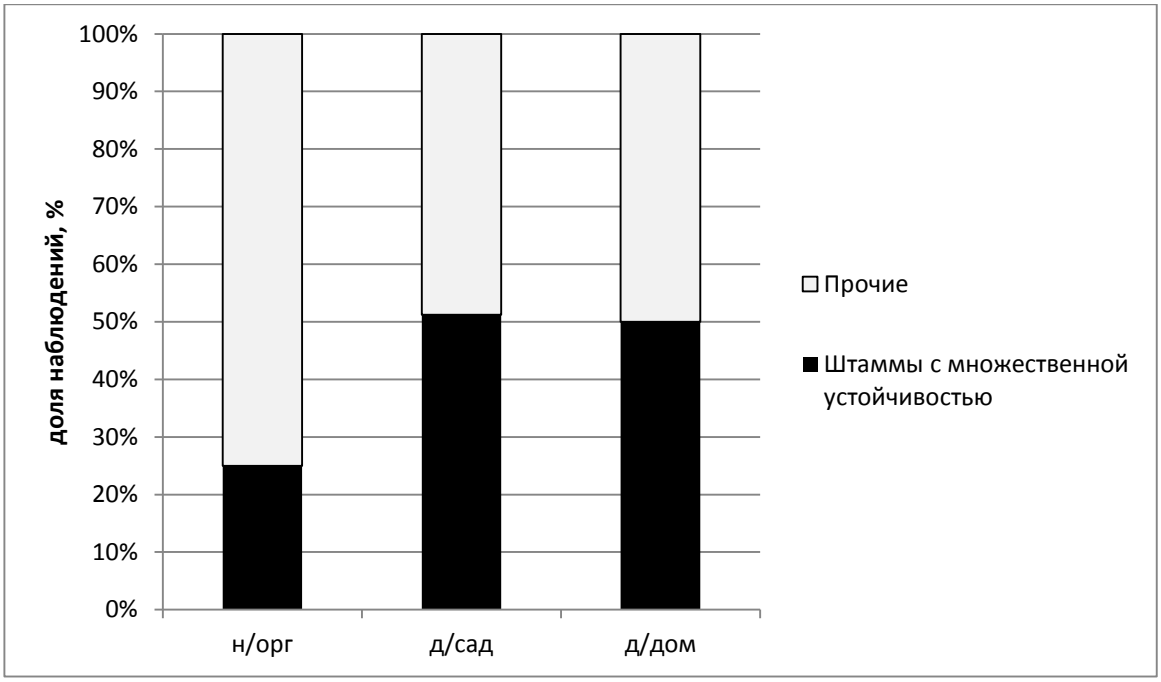


Рис. 3.5. Частота выявления штаммов *S. pneumoniae* с множественной устойчивостью у воспитанников детских домов, дошкольных учреждений и неорганизованных детей в возрасте до 5 лет

Вместе с тем не выявлено связи носоглоточного носительства 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.

Таким образом, проведенный анализ серотипового разнообразия *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве позволил определить спектр циркулирующих пневмококков в детской популяции, он сохраняет стабильность в нашей стране в последние десятилетия.

В результате нашего исследования получены тревожные данные о значительном росте устойчивости циркулирующих серотипов *S.pneumoniae* к антибиотикам, что, вероятно, связано с распространенной клинической практикой антибактериальной терапии.

У детей из закрытых и полузакрытых детских коллективов пневмококки с множественной устойчивостью к антибиотикам выявлялись в два раза чаще, чем у неорганизованных детей. У детей из детского дома было выявлено всего два серотипа пневмококка (19F и 23F), все они были полирезистентными. В данном случае высока вероятность, что это эффект обмена патогенами между воспитанниками в закрытом коллективе.

ГЛАВА 4. НОСОГЛОТОЧНОЕ НОСИТЕЛЬСТВО *S. PNEUMONIAE* ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕ 5 ЛЕТ, ЕГО СЕРОТИПОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ

В данной главе представлены результаты двухлетнего многоцентрового исследования, основной задачей которого явилось определение циркулирующих серотипов *S. pneumoniae* и распространенности инфекций пневмококковой этиологии в структуре острых респираторных бактериальных инфекций у детей младшего возраста, госпитализированных в стационары г. Москвы в 2011-2012 годах в целях оптимизации терапии и профилактики заболеваний.

4.1. Роль *S. pneumoniae* в структуре острых респираторных бактериальных инфекций у детей младшего возраста, госпитализированных в стационары г. Москвы в 2011-2012 гг.

Всего в исследование было включено 864 пациента. В лабораторию ФГБНУ НЦЗД за время реализации проекта поступило 1716 образцов биологического материала (в среднем – по 2 образца на каждого пациента) (табл. 4.1). Основную часть образцов составили носоглоточные мазки (50%) и жидкость среднего уха (43%). Посевов крови было выполнено 106 (6%), а также было проанализировано 10 образцов спинномозговой жидкости (1%).

Таблица 4.1. Общая характеристика результатов микробиологического исследования

Образцы биоматериала	**Всего образцов, n (%)**	***S.pneumoniae*, n (%)**
Носоглоточный мазок	857 (50)	208 (59)
Жидкость среднего уха (ЖСУ)	742 (43)	140 (40)
Кровь	106 (6)	3 (0,8)
Ликвор	10 (1)	1 (0,2)
Всего	***1716 (100)***	***352 (100)***

S. pneumoniae был выделен в 352/1716 (20%) образцах. Подавляющее большинство штаммов выделено из носоглотки (208/352; 59%) и жидкости среднего уха (ЖСУ) (140/352; 40%). В стерильных локусах (крови и ликворе) культуральным методом удалось идентифицировать 4 штамма *S. pneumoniae*.

Характеристика пациентов

Подавляющее большинство (746; 86%) включенных в исследование пациентов составили больные острым гнойным средним отитом и синуситом (рис. 4.1). Внебольничная пневмония была диагностирована у 77 (9%) больных, сепсис и бактериемия – у 31 (3,6%) и гнойный менингит у 10 (1,2%) пациентов.



Рис.4.1. Нозологическая структура включенных в исследование пациентов с острыми бактериальными инфекциями (n = 864)

Из 864 пациентов, включенных в исследование, 484 (56%) были мальчики. Сопутствующие атопические болезни отмечены у 44 (5%) детей. Детские дошкольные учреждения посещали 155 (18%) детей. Хотя бы один раз за последние 3 месяца антибиотики были назначены 104 (12%) детям. Вместе с тем вакцинация от гемофильной инфекции была ранее проведена лишь 7 (0,8%) детям, а от

пневмококковой инфекции 2 (0,2%) детям: один ребенок был вакцинирован полисахаридной вакциной «Пневмо-23», другой – семивалентной конъюгированной вакциной «Превенар-7».

Клиническая практика в РФ до настоящего времени характеризуется высокой частотой назначения антибактериальных препаратов до получения образцов биоматериала у пациентов, т.е. без проведения этиологической диагностики. В нашем исследовании 240 (28%) включенных больных получили одну или две дозы антибактериального препарата до получения у них образцов биоматериала. При этом на фоне приема антибиотиков практически в 2 раза уменьшалась доля образцов, в которых высевался *S. pneumoniae.*

Результаты микробиологического исследования

В ходе исследования культуральным методом в крови и спинномозговой жидкости выделено 19 инвазивных штаммов различных микроорганизмов, в том числе 4 штамма *S. pneumoniae* (табл. 4.2). Еще в двух случаях (1 образец крови и 1 образец ликвора) пневмококк был выявлен методом ПЦР-диагностики (LytA+) при отрицательном результате культурального метода. Таким образом, в исследовании было отмечено 6 случаев инвазивных пневмококковых инфекций у госпитализированных детей.

У многих пациентов (7 из 19) положительную гемокультуру следует расценивать как вероятную контаминацию при заборе крови на стерильность. Исключая случаи вероятной контаминации при заборе крови для микробиологического исследования, положительная гемокультура составила всего 5% (5/106) от всех собранных образцов крови. Всего было выделено 11 истинно инвазивных штаммов различных микроорганизмов (см. табл. 4.2).

Несмотря на небольшое число зарегистрированных в нашем исследовании инвазивных пневмококковых инфекций (ИПИ), необходимо отметить тяжесть их течения. Один ребенок из числа пациентов с верифицированной ИПИ умер (см. клиническое наблюдение 1).

Таблица 4.2. Инвазивные серотипы *S. pneumoniae*, выделенные культуральным методом

Показатели	**Материал (n, %)**		Итого
	Кровь	**Ликвор**	
Всего	**106 (100)**	**10 (100)**	**116 (100)**
Отрицательная культура	94 (89)	3 (30)	97 (84)
Положительная культура	12 (11)	7 (70)	19 (16)
Из них истинных патогенов:			
S. pneumoniae	3 (серотипы 14, 23F и 3)	1 (серотип 15C)	4
H. influenzae	1	5	6
N. meningitides	1	-	1
Вероятная контаминация:			
S. epidermidis	2	-	2
E. faecalis	1	-	1
Micrococcus	1	-	1
S. hominis	1	-	1
S. viridans	1	-	1
S. anginosus	-	1	1
S. capitis	1	-	1

Клиническое наблюдение 1

Девочка в возрасте 3 лет госпитализирована в стационар по настоянию родителей на 6-й день болезни. В течение предыдущих 5 дней болезни отмечались упорная фебрильная лихорадка с подъемами температуры до 39°C каждые 3–4 ч, кашель. За период болезни девочка дважды была осмотрена педиатром дома, заболевание расценивалось как острая респираторная вирусная инфекция, никаких дополнительных к клиническому осмотру диагностических мероприятий не проводилось. Получала жаропонижающие препараты.

Анамнез ребенка не отягощен, хронических болезней не имела, привита в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок, посещала детский сад. В день госпитализации сохранялась фебрильная лихорадка, нарастали слабость, вялость, малопродуктивный редкий кашель.

При поступлении: состояние тяжелое, выраженные симптомы интоксикации. Обращали на себя внимание периоральный и периорбитальный цианоз, тахипноэ до 60 в мин, одышка с втяжением уступчивых мест грудной

клетки, тахикардия до 145 в мин. При аускультации отмечено ослабление дыхания над правым легким.

В анализах крови при поступлении: анемия (Hb 101 г/л), лейкопения (число лейкоцитов 3 тыс./мкл, из них нейтрофилов 2,5 тыс./мкл), выраженная тромбоцитопения (35 тыс./мкл), повышение концентрации СРБ до 250 мг/л, прокальцитонина — до 200 нг/мл, декомпенсированный ацидоз (pH = 7,22), гипоальбуминемия, гипонатриемия, гиперкалиемия, гиперхлоремия, повышение содержания креатинина до 226 ммоль/л.

Рентгенологически установлено тотальное затемнение правого легкого.

В стационаре диагностирована острая правосторонняя пневмония, осложненная гемолитико-уремическим синдромом. Несмотря на проводившуюся антибактериальную терапию, гемодиализ, комплексную симптоматическую терапию, девочка умерла на 10-е сутки болезни. Ретроспективно в крови ребенка методом ПЦР был выявлен S. pneumoniae.

Данное клиническое наблюдение демонстрирует недооценку тяжести состояния ребенка на догоспитальном этапе, позднее решение о целесообразности госпитализации и обследования. Осложнивший пневмонию гемолитико-уремический синдром (ГУС) является редким, но грозным осложнением пневмококковой инфекции. В этиологии ГУС инвазивная инфекция *S. pneumoniae* составляет всего 5%, и всего лишь 0,4–0,6% инвазивных пневмококковых инфекций осложняется развитием ГУС, хотя предполагается, что частота этого синдрома недооценивается [168].

Тяжелые исходы инвазивных пневмококковых инфекций в общей структуре не так уж часты. Но на сегодняшний день их нельзя считать неизбежными, поскольку существует возможность эффективной вакцинопрофилактики и действенной антибактериальной терапии в случае развития заболевания.

В носоглоточном мазке пневмококк был выделен у 208 (24% всех образцов носоглоточных мазков) больных (см. табл. 4.1). В жидкости среднего уха частота выявления *S. pneumoniae* составила 19% от всех полученных образцов ЖСУ.

В структуре выделенных микроорганизмов при посевах носоглоточных образцов было отмечено преобладание пневмококка, частота его выделения при этом составила 47% (рис. 4.2).

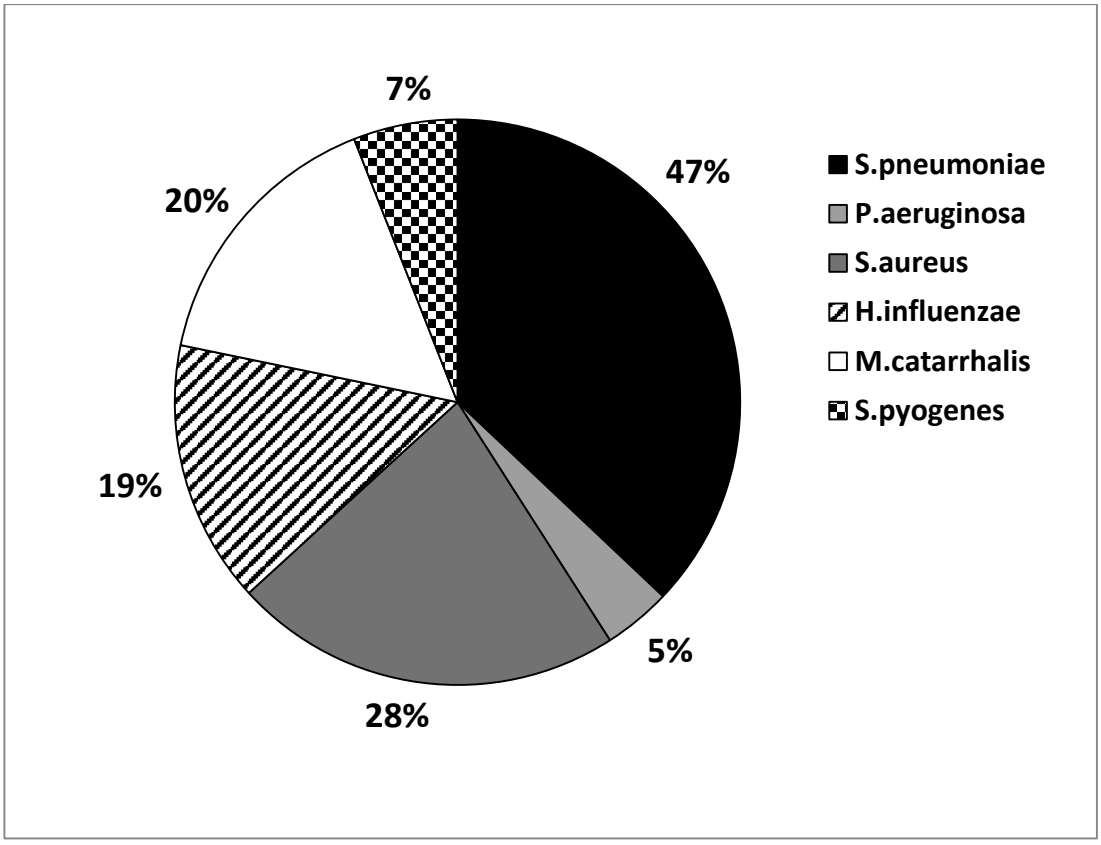


Рис. 4.2. Условно-патогенная флора носоглотки у детей в возрасте до 5 лет с острыми респираторными бактериальными инфекциями (n = 386)

Таким образом, проведенное исследование показало, что *S. pneumoniae* является основным патогеном в структуре носоглоточного носительства у госпитализированных по поводу острой респираторной бактериальной инфекции детей младше 5 лет.

Идентификация этиологии острой респираторной бактериальной инфекции, в частности пневмонии, у детей также может оказаться проблемой при

использовании только микробиологического метода. Положительный посев на флору биоматериала, полученного из носоглотки, не является однозначным подтверждением этиологии пневмонии или другой респираторной бактериальной инфекции и характеризует прежде всего ***носительство*** условно-патогенных бактерий [169,170]. Получение мокроты для культурального исследования у детей в большинстве случаев крайне затруднительно, а в случае, если ее удается получить, положительный результат исследования не может быть стопроцентно интерпретирован как та или иная этиология внебольничной пневмонии [171]. Микробиологическое исследование бронхоальвеолярной жидкости и биоптатов легкого рутинно не проводят.

Культуральное исследование крови дает положительный результат у 13–26,5% больных с осложненной пневмонией, но менее чем у 5% пациентов с нетяжелыми и неосложненными формами внебольничной пневмонии [172]. Это, прежде всего, связано с тем, что большинство случаев пневмонии у детей не являются бактериемическими. Безусловно, на результаты культурального исследования крови будет влиять и назначение антибактериальной терапии до забора биоматериала на посев. Использование молекулярно-биологических методов (метод полимеразной цепной реакции, ПЦР) может повышать чувствительность идентификации бактериального патогена, в частности *S. pneumoniae*, в несколько раз, но пока также не используется в рутинной практике [173].

Исследование антигенов пневмококка в моче является высокоэффективным и простым способом подтверждения наличия инфекции *S. pneumoniae* у взрослых, но не может использоваться для подтверждения пневмококковой этиологии бактериальной инфекции у детей, поскольку не дифференцирует больных от носителей инфекции [169,170].

Результаты серотипирования S. pneumoniae

Из 208 носоглоточных штаммов *S. pneumoniae* был протипировано 200 изолятов (табл. 4.3).

Таблица 4.3. Распределение носоглоточных серотипов *S. pneumoniae* у детей в возрасте до 5 лет с острыми респираторными бактериальными инфекциями

Серотипы	n	%	Накопленный %
ПКВ7			
19F	45	22,5	22,5
14	27	13,5	36
23F	24	12	48
6B	22	11	59
18C	5	2,5	61,5
4	2	1	62,5
9V	2	1	**63,5**
Дополнительно для ПКВ10			
7F	3	1,5	65
1	1	0,5	**65,5**
Дополнительно для ПКВ13			
3	17	8,5	74
6A	16	8	82
19A	8	4	**86**
Не входящие в ПКВ13			
15B	7	3,5	89,5
11A	3	1,5	91
35F	3	1,5	92,5
42	3	1,5	94
9N	2	1	95
10A	2	1	96
16F	2	1	97
23A	2	1	98
13	1	0,5	98,5
28F	1	0,5	99
35C	1	0,5	99,5
39	1	0,5	100
Всего	200	100	
Не типировали	4 (1,9%)		
Нетипируемые	4 (1,9%)		
Итого	208		

Всего было идентифицировано 24 различных серотипа пневмококков. Наиболее часто (n > 10) встречались серотипы 19F, 14, 23F, 3, 6A и 6B, которые в сумме составили 75,5% распределения.

Структура серотипов пневмококка, выделенных из носоглоточных мазков, существенно не различается у больных в зависимости от возраста (рис. 4.3). Отмечается высокая частота носительства серотипа 19F у детей первого года жизни и рост встречаемости серотипа 3 у пациентов старше 3-х лет.

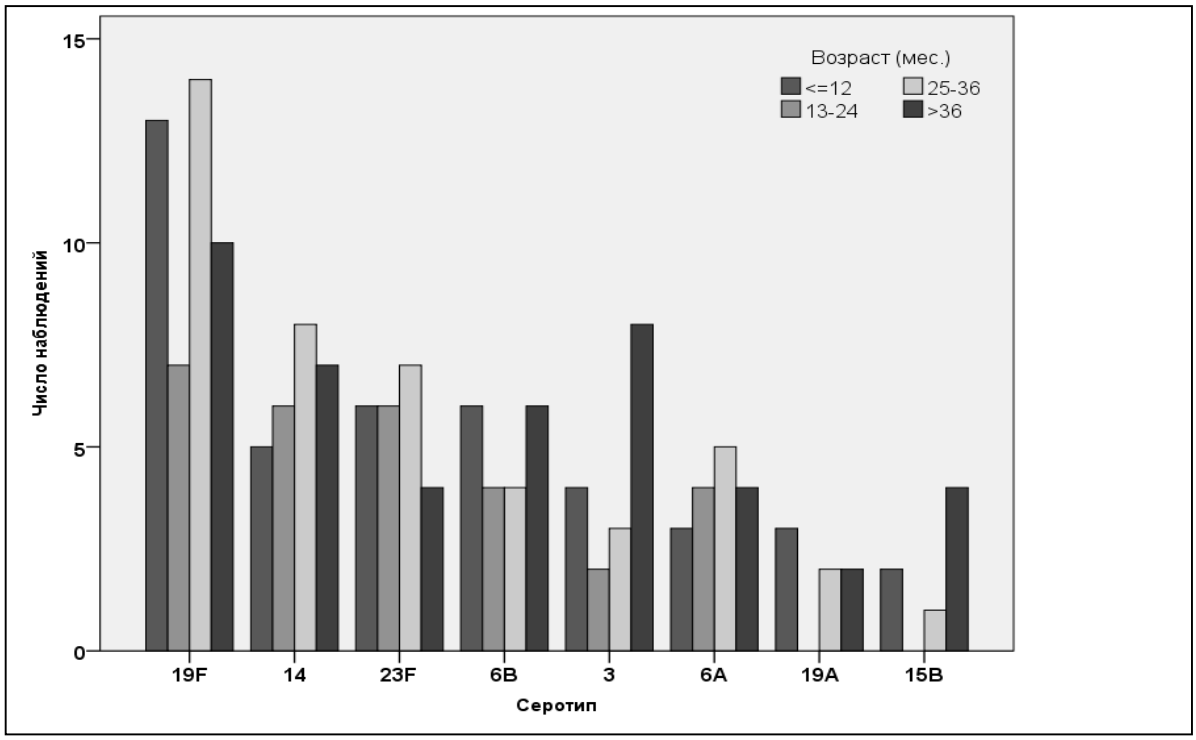


Рис.4.3. Возрастная структура серотипов *S. pneumoniae*, выделенных в носоглоточных мазках (n = 200)

Таким образом, при анализе этиологии инвазивных инфекций в нашем исследовании были выявлены серотипы 14, 23F, 3 и 15C. Распределение серотипов, ответственных за инвазивные пневмококковые инфекции, отличается от распределения неинвазивных серотипов.

Согласно результатам нашего исследования, при анализе носоглоточного носительства пневмококка у детей с респираторными бактериальными инфекциями преобладающими оказались серотипы 19F, 14, 23F, 3, 6A и 6B, они встречались в ¾ всех случаев, причем наиболее высока доля серотипа 19F (>20%).

Чувствительность к антибиотикам штаммов S. pneumoniae у детей в младше 5 лет с острыми респираторными бактериальными инфекциями

Чувствительность к антибиотикам была протестирована у 199 штаммов пневмококка. В панель исследованных антибиотиков вошли оксациллин, эритромицин, азитромицин, кларитромиин, клиндамицин и ТМП/СМЗ. Резистентность к различным группам антибиотиков варьировала от 29% до 50% (табл. 4.4). Наибольший уровень резистентности пневмококка наблюдался к ТМП/СМЗ (50%).

По результатам скринингового метода определения чувствительности к бета-лактамам с помощью диска с оксациллином было выявлено 79 (39%) оксациллин-резистентных штаммов пневмококка. Для выявления уровня резистентности к пенициллину у всех устойчивых к оксациллину штаммов была определена МПК пенициллина с помощью Е-теста. Это исследование показало, что 6% (5/79) тестированных штаммов были чувствительны к пенициллину (МПК ≤ 0,06 мг/л). Остальные 94% (74/79) изолятов имели МПК > 0,06 мг/л, т.е. относились к пенициллин-нечувствительным пневмококкам. Таким образом, доля штаммов со сниженной чувствительностью или резистентностью к пенициллину составила 37%.

Среди исследованных штаммов пневмококка множественной устойчивостью (устойчивость к 3 и более классам антибиотиков) обладали 25% (50/199) изолятов (см. табл. 4.4). Множественная устойчивость была свойственна ограниченному числу пневмококковых серотипов. К ним относились серотипы 19F, 14, 23F, 19A, 6A, 6B, 9V.

Наиболее устойчивые к антибиотикам пневмококки выявлялись среди штаммов, относившихся к серогруппе 19. Уровень устойчивости к антибиотикам пневмококков серотипа 19F варьировал от 73% (33/45) к триметоприму/сульфаметоксазолу до 51% (23/45) к клиндамицину. Устойчивость серотипа 19A составила 88% (7/8) к пенициллину и триметоприму/сульфаметоксазолу.

Таблица 4.4. Устойчивость штаммов *S. pneumoniae* к антибиотикам

Серотип	n	Нечувствительные штаммы, n							
		PEN	ERY	AZI	CLA	TMP/ SMX	CLI		МУ
							NS	iMLSb	
19F	45	27	25	25	23	33	23	0	24
14	27	19	11	11	11	18	9	2	10
23F	24	10	3	3	2	19	1	0	2
19A	8	7	4	4	3	7	2	0	4
6A	16	3	4	4	3	14	3	0	4
6B	21	1	11	11	11	9	11	1	5
9V	2	2	1	1	1	1	2	0	1
3	17	0	0	0	0	0	1	0	0
7F	3	0	0	0	0	0	0	0	0
18C	5	0	0	0	0	0	0	0	0
4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Прочие*	28	2	2	2	2	2	11	1	0
Все серотипы	**199 (100%)**	**74 (37%)**	**61 (31%)**	**61 (31%)**	**58 (29%)**	**103 (52%)**	**63 (32%)**	**4 (2%)**	**50 (25%)**

Примечание. PEN – пенициллин; ERY – эритромицин; AZI – азитромицин, CLA – кларитромицин, TMP/SMX – триметоприм/сульфаметоксазол, CLI – клиндамицин, NS-нечувствительные штаммы; $iMLS_B$ (фенотип) - индуцибельная резистентность к клиндамицину; МУ - множественная устойчивость (устойчивость к 3 или более группам антибиотиков).

*Прочие серотипы (n=28): 15B – 7; 11A, 35F, 42 – по 3 каждого; 23A, 10A, 9N, 16F – по 2 каждого; 13, 28F, 35C, 39 - по 1 каждого.

Более половины (53%; 24/45) 19F-штаммов и 50% 19A-штаммов обладали множественной устойчивостью. Также к категории высокой устойчивости к антибиотикам относились пневмококки 14 серотипа, устойчивость которых к пенициллину составила 70%, а к эритромицину - 41%.

Пневмококки серотипа 3 в значительной степени сохраняли чувствительность ко всем тестированным антибиотикам. Все штаммы этого

серотипа были чувствительны к оксациллину, и только 1/17 изолятов был устойчив к ТМП/СМЗ. Ни один изолят пневмококка серотипа 3 не обладал множественной устойчивостью. Большинство штаммов серотипа 23F были чувствительны к оксациллину, эритромицину, клиндамицину, число штаммов со множественной устойчивостью составило всего 8% (2/24).

Необходимо подчеркнуть, что все изоляты пневмококка, обладавшие множественной устойчивостью к антибиотикам, относились к вакцинным серотипам (входили в состав серотипов в ПКВ7, ПКВ10 и ПКВ13). Множественная устойчивость была свойственна всем штаммам, нечувствительным к пенициллину.

Устойчивость к эритромицину выявлена у 31% (61/199) исследованных штаммов пневмококка. Для уточнения механизмов резистентности к макролидам у 59 эритромицин-резистентных штаммов была проведена ПЦР для выявления *ermB* и *mef* генов (табл. 4.5).

Таблица 4.5. Генетические детерминанты резистентности к макролидам у штаммов *S. pneumoniae,* устойчивых к эритромицину

Гены резистентности	**Число штаммов**	**%**
ermB+	26	44
mef+	5	9
ermB+/*mef*+	25	42
ermB-/*mef*-	3	5
Всего	***59***	***100***

Ген *ermB* был выявлен у 44% (26/59) штаммов, ген *mef* имели 9% (5/59) штаммов. Оба гена были обнаружены у 42% (25/59) исследованных изолятов. У трех эритромицин-резистентных штаммов ни один из генов не был выявлен.

Таким образом, уровень устойчивости пневмококка к антибиотикам в нашей коллекции был значительным. Общий уровень устойчивости к

пенициллину составил 37%, резистентность к макролидам была на уровне 31%, а 25% штаммов *S. pneumoniae* обладали множественной устойчивостью.

4.2. Практика назначения системных антибактериальных препаратов при респираторных инфекциях у детей младшего возраста

В структуре острых бактериальных инфекций, обусловливающих подавляющее число госпитализаций детей младшего возраста в стационар, преобладают болезни слизистых оболочек, прежде всего отиты и синуситы. В большинстве случаев эти респираторные заболевания не являются жизнеугрожающими, однако их распространенность еще раз свидетельствует о том, что это самая частая причина назначения антибиотиков детям. Острый средний отит повсеместно считается второй по частоте (после респираторных вирусных инфекций) болезнью детского возраста [74].

Вместе с тем столь большая доля острых отитов как причина госпитализации детей может обсуждаться, разумеется, и с точки зрения целесообразности лечения таких пациентов в круглосуточном стационаре. Наше исследование в этой связи наглядно демонстрирует реальную педиатрическую практику в детских больницах Москвы: госпитализируются практически все, кто обращается в приемное отделение больницы; лечение мукозальных инфекций, не требующих обычно инфузионной терапии, длительно (до 7-10 дней) осуществляется в стационарных условиях; тимпаноцентез является рутинной процедурой у пациентов со средним отитом и проводится практически всем больным с этим диагнозом. Такая практика существенно отличается от общепринятой в большинстве развитых стран и требует скорейшего пересмотра. Этот вывод относится к сфере организации здравоохранения, но очевиден при анализе полученной в нашем исследовании структуры госпитализаций.

Следует отметить также клиническую практику назначения антибактериальной терапии детям с подозрением на острую бактериальную инфекцию на догоспитальном этапе. Антибиотик до взятия биоматериала в нашем исследовании получили 240 детей, из них 197 (82%) – на этапе приемного отделения или стационарного отделения до постановки диагноза и включения в исследование (табл. 4.6). Выбор антибактериального препарата в 50% случаев пришелся на цефалоспорины третьего поколения (преимущественно цефтриаксон)

и в 33% случаев на цефалоспорины первого поколения (цефазолин). В амбулаторной практике предпочтение при эмпирической антибиотикотерапии отдается таким препаратам как «Сумамед» (азитромицин) и «Супракс» (цефиксим). Основной антибиотик, показанный при отитах, синуситах и пневмониях у детей, амоксициллин, на догоспитальном этапе был эмпирически выбран врачами лишь в 8% случаев.

Таблица 4.6. Эмпирическая антибактериальная терапия при острых респираторных инфекциях в реальной клинической практике в г.Москве

Антибактериальные препараты	**Пациенты, получавшие антибактериальную терапию**
Всего назначений антибиотиков до верификации диагноза	240/864 (28%)
Из них парентерально	197/240 (87%)
Цефалоспорины I поколения	79/240 (33%)
Цефалоспорины II поколения	5/240 (2%)
Цефалоспорины III поколения	115/240 (48%)
Макролиды (азитромицин)	14/240 (6%)
Амоксициллин (± клавуланат)	19/240 (8%)
Аминогликозиды (амикацин)	2/240 (1%)
Другие	4/240 (2%)

Клиническое наблюдение 2

*Девочка 2-х лет обратилась в клинику НЦЗД на 21-й день болезни с жалобами на сохраняющуюся в течение 3-х недель фебрильную лихорадку, плохой аппетит, капризность, вялость, боль в груди при дыхании. Ранний анамнез ребенка не отягощен, хронических болезней нет, привита в соответствии с национальным календарем профилактических прививок, за месяц до настоящей болезни перенесла неосложненный инфекционный мононуклеоз, для лечения которого получила два курса антибиотиков широкого спектра. Заболела остро с повышения температуры до 40*С, появился сухой кашель. Педиатром был назначен цефиксим («Супракс»), в связи с сохранением лихорадки и нарастанием кашля на фоне*

антибактериальной терапии на 4-й день болезни была сделана рентгенограмма грудной клетки, диагностирована левосторонняя пневмония. Цефиксим был заменен на цефтриаксон 2 раза в день внутримышечно, инъекции которого девочка получала в течение 10 дней. Кашель купировался, несколько улучшился аппетит, но лихорадка сохранялась, в связи с чем после 14 дней лечения была проведена очередная смена антибактериальной терапии: назначены цефотаксим внутримышечно 4 раза в день, амикацин внутримышечно 2 раза в день и азитромицин 1 раз в день внутрь.

Помимо антибиотиков, в течение 3-х недель лечения девочка принимала различные симптоматические средства (жаропонижающие, отхаркивающие, муколитики, местные антисептики, противогрибковые, эубиотики, сосудосуживающие препараты). На фоне массивной антибактериальной терапии был назначен также антигистаминный препарат хлоропирамин («Супрастин») в форме инъекций 2 раза в день. Таким образом, к моменту обращения в отделение неотложной педиатрии НЦЗД девочка получала 8 внутримышечных инъекций различных лекарственных средств в сутки.

В клинике при осмотре состояние ребенка расценено как среднетяжелое, симптомы интоксикации минимально выражены, физикальные изменения в легких соответствовали установленному ранее диагнозу левосторонней нижнедолевой пневмонии, однако ни одышки, ни гипоксемии у ребенка не отмечено. В общем анализе крови сохранялся умеренный лейкоцитоз до 17 тыс/мкл, ускоренная СОЭ до 50 мм/ч, уровень С-реактивного белка повышен до 35 мг/л. На рентгенограмме легких визуализировалась левосторонняя нижнедолевая плевропневмония (рис. 4.4), признаков деструкции легочной ткани не выявлено. Сохранение лихорадки у девочки при отсутствии признаков тяжелой бактериальной интоксикации было расценено как течение метапневмонического плеврита, парентеральные антибиотики были отменены, планово назначен ибупрофен с противовспалительной и обезболивающей целью, амоксициллин-клавуланат энтерально до купирования лихорадки. Остальная лекарственная терапия была отменена как избыточная.



Рис.4.4. Рентгенограмма пациентки 2-х лет с левосторонней плевропневмонией в поздние сроки болезни.

Ребенок наблюдался в амбулаторном режиме, через три дня при значительном улучшении самочувствия и купировании лихорадки амоксициллин-клавуланат и ибупрофен были отменены.

Приведенный клинический пример наглядно демонстрирует существующую полипрагмазию и неадекватный подбор антибактериальных средств при лечении внебольничной пневмонии у детей.

Выбор антибактериальных препаратов обычно основывается на чувствительности патогена и на таких характеристиках лекарственного средства, как безопасность, переносимость, особенности его фармакокинетики и фармакодинамики. Как показывают результаты нашего исследования, согласующиеся с ранее опубликованными данными, циркулирующие в России штаммы *S. pneumoniae* сохраняют высокую чувствительность к амоксициллину,

поэтому именно этот антибиотик можно считать самым простым и эффективным средством лечения типичной (пневмококковой) пневмонии у детей.

В большинстве случаев для лечения пневмококковой пневмонии достаточно назначить пероральный амоксициллин в дозе не менее 40 мг/кг веса дважды в день. При очень тяжелой пневмонии у госпитализированных пациентов, при невозможности приема пациентом антибиотика per os оптимальным вариантом является ступенчатая терапия, которая предполагает назначение парентеральных антибактериальных препаратов с последующим переходом на пероральный путь введения тех же или близких по спектру активности средств. В таких случаях наиболее оправданно внутривенное введение антибиотика детям в стационаре. Цефалоспорины III поколения (цефтриаксон, цефотаксим) должны рассматриваться как средства второго выбора.

Для предотвращения излишней боли целесообразна постановка внутривенного катетера на период парентеральной терапии. Многократные внутримышечные инъекции, как в нашем клиническом наблюдении, никак нельзя считать оправданными. Переход на пероральный прием антибиотика осуществляется при стабилизации состояния пациента и улучшении клинической картины болезни, в среднем это происходит через 2–3 дня от начала лечения [174,175].

Длительность терапии нетяжелой пневмонии может не превышать 5 дней: существуют доказательства эффективности лечения при употреблении антибиотиков в течение всего 3–4 дней [174]. При этом повсеместная современная педиатрическая практика, к сожалению, в большинстве случаев характеризуется продолжительностью антибактериальной терапии при пневмонии любой степени тяжести не менее 7–10 дней.

В клинической практике зачастую наблюдают не только необоснованные госпитализации, но и, напротив, отсроченное определение показаний для стационарного лечения и позднее назначение антибактериальной терапии.

Клиническое наблюдение 3

Мальчик 2 лет 5 мес госпитализирован в стационар на 6-й день острого фебрильного состояния. Анамнез не отягощен, профилактические прививки проведены в соответствии с Национальным календарем вакцинопрофилактики. Дома в течение 6 дней отмечалась лихорадка до 39,5°С, ринит, малопродуктивный кашель. Неоднократно был осмотрен педиатром, с целью снизить температуру тела назначен нимесулид («Найз»), на фоне которого интервалы между подъемами температуры увеличились до 12–15 ч. Родители привезли ребенка в стационар в связи с нарастанием кашля, сохранением лихорадки, жалобами на боль в ушах.

При поступлении: состояние средней тяжести, температура 36,9°С на фоне нимесулида, ЧД 32 в мин, ЧСС 122 в мин, SpO2 при дыхании комнатным воздухом 97%. При осмотре диагностировано локальное ослабление дыхания слева под лопаткой, двусторонний гнойный отит. В общем анализе крови: нейтрофильный гиперлейкоцитоз (лейкоцитов 38,3 тыс/мкл, нейтрофилов 33,4 тыс/мкл), концентрация С-реактивного белка 373 мг/л, уровень прокальцитонина > 10 нг/мл. На рентгенограмме органов грудной клетки и компьютерной томограмме (рис. 4.5) визуализируется консолидация в проекции нижней доли левого легкого. В посеве крови на стерильность — рост Streptococcus pneumoniae (серотип 3), тот же серотип пневмококка выделен в посеве назофарингеального мазка.

Ребенку был назначен амоксициллин-клавуланат внутривенно в дозе 90 мг/кг в сутки в течение 3 дней; затем, при улучшении состояния, продолжено лечение амоксициллином-клавуланатом перорально в дозе 80 мг/кг в сутки еще 4 дня. Выполнен тимпаноцентез с двух сторон в связи с сохранением гнойного экссудата в барабанной полости, несмотря на проведение антибактериальной терапии. Мальчик был выписан домой на 7-й день лечения.

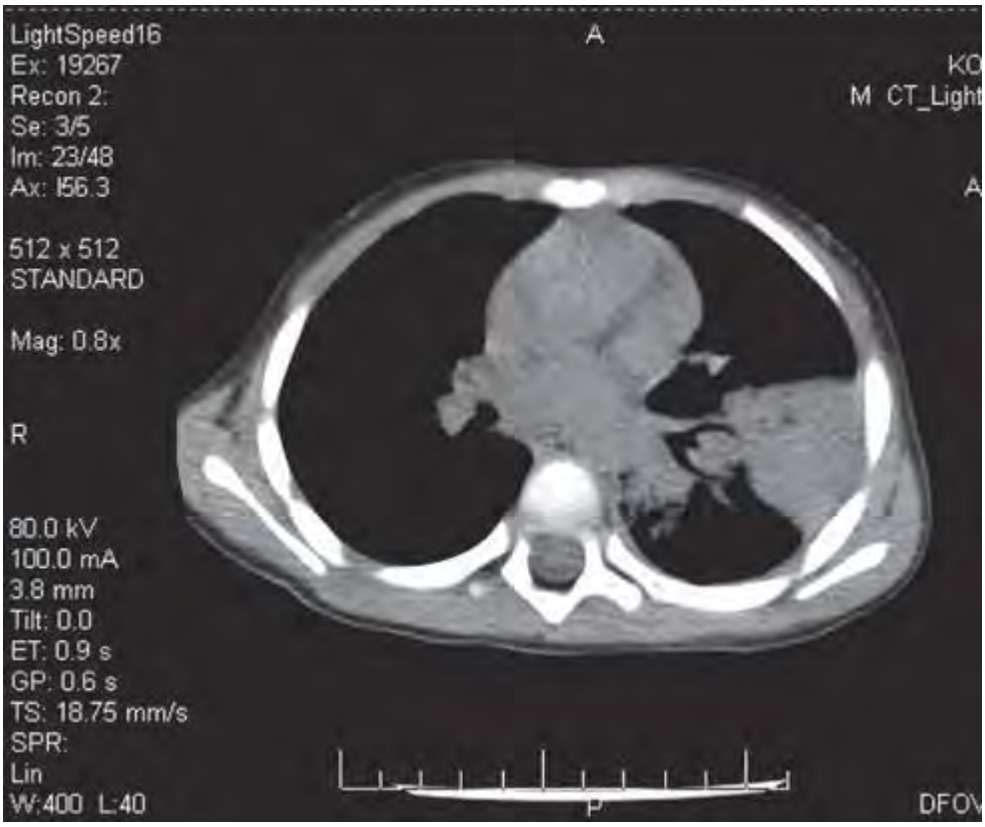


Рис. 1. Компьютерная томограмма пациента с пневмококковой бактериемической пневмонией

В описанной выше ситуации ребенок был госпитализирован в поздние сроки болезни. В лечении в качестве жаропонижающего применялся нимесулид, не являющийся препаратом выбора в этой группе симптоматических средств и отличающийся высокой гепатотоксичностью. «Маскирующий» эффект нимесулида с длительным купированием лихорадки, в т. ч. при бактериальных инфекциях, в клинической практике наблюдается нередко. В данном случае длительное купирование лихорадки и периоды относительно неплохого самочувствия ребенка на фоне нимесулида снизили настороженность лечащего врача и отсрочили назначение антибактериальной терапии. У описанного пациента отсутствовали гипоксемия и одышка при поступлении в стационар, несмотря на бактериемический характер течения пневмококковой пневмонии.

Таким образом, выбор антибактериального препарата при подозрении на острую бактериальную инфекцию у детей в реальной практике в Москве нередко не соответствует рекомендациям ВОЗ и международных руководств. Кроме того, преобладает парентеральное введение антибактериальных препаратов, хотя подавляющую долю средних отитов и пневмоний у детей можно вылечить при пероральном приеме амоксициллина [176]. Широкое применение антибиотиков и их нерациональный выбор способствуют росту резистентности *S. pneumoniae* к противомикробным препаратам [177-179].

ГЛАВА 5. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, КЛОНАЛЬНОЕ И СЕРОТИПОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПНЕВМОКОККОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ

Пневмококк является ведущим этиологическим агентом одной из наиболее распространенных инфекций детского возраста – острого среднего отита (ОСО), составляя в структуре бактериальных отопатогенов 30-80% [180,181]. Более 80% детей переносят по меньшей мере 1 эпизод ОСО в течение первых трех лет жизни, а у 40% к возрасту 7 лет ОСО возникает шесть и более раз [75]. Ведущая роль пневмококка в этиологии ОСО сочетается с глобальным ростом его устойчивости к антибиотикам. Так, во многих странах Европы распространенность штаммов со сниженной чувствительностью к пенициллину достигает 25-50%, а глобальная доля пенициллин-нечувствительных пневмококков оценивается в 33% [177,182,183]. Более 20% пневмококков обладают резистентностью к макролидам, а в отдельных регионах, например, в странах Азии и особенно в Китае, макролид-резистентные пневмококки встречаются с частотой 50-100% [194,182-184]. Кроме того, получили распространение штаммы с множественной устойчивостью к антибиотикам, доля которых в общей популяции пневмококков может достигать 40% и более.

5.1. Структура бактериальных возбудителей острого среднего отита у детей в возрасте до 5 лет

Образцы ЖСУ были собраны у 541 пациента с ОСО. Медиана возраста составила 30 мес (25 перцентиль – 14 мес, 75 перцентиль – 41 мес), у 64% (347/541) пациентов был односторонний ОСО, у остальных – двусторонний ОСО. У большинства пациентов (62%; 334/541) образец ЖСУ был получен путем тимпаноцентеза, еще у 31% (168/541) больных ЖСУ получили через отверстие в барабанной перепонке, образовавшееся после ее спонтанного прорыва, в 7% (39/541) случаев данных о типе образца зафиксировано не было. Значимые

отопатогены были выделены в 187 образцах ЖСУ, полученных от 172 пациентов. Таким образом, частота этиологически расшифрованного ОСО составила 32% (172/541), при этом наибольшую долю в структуре положительных культуральных результатов имел *S. pneumoniae* (63%; 109/172) (табл. 5.1, столбец «Всего»).

Таблица 5.1. Результаты культурального исследования ЖСУ пациентов с ОСО, получавших и не получавших антибиотик до взятия образца

Пациенты	**Всего, n (%)**	**Антибиотик до взятия ЖСУ n (%)**			***p*****
		n	**Не получали**	**Получали**	
Всего пациентов с ОСО	541 (100%)	472*	352 (75%)	120 (25%)	
Пациенты с положительным культуральным результатом	172 (32%)	149	124 (35%)	25 (21%)	**0,003**
Из числа пациентов с положительным культуральным результатом:***					
Всего:	172 (100%)	149	124 (100%)	25 (100%)	
S. pneumoniae	109 (63%)	97	86 (69%)	11 (44%)	**0,015**
S. pyogenes	44 (26%)	35	24 (19%)	11 (44%)	**0,008**
H. influenzae	20 (12%)	18	16 (13%)	2 (8%)	0,49
M. catarrhalis	14 (8%)	13	11 (9%)	2(8%)	0,89

Примечание.

* Данные о приеме антибиотика до взятия ЖСУ были доступны для 472/541 (87%) пациентов.

** Значение *p* указывает на значимость различий между долями в соответствующих ячейках таблицы колонок «Не получали» и «Получали» антибиотик. NS – незначимые различия.

*** Сумма долей отопатогенов превышала 100%, поскольку в некоторых образцах ЖСУ присутствовали комбинации 2 или 3 патогенов, каждый из которых считали этиологически значимым.

В наше исследование были включены пациенты с ОСО как получавшие антибиотик, так и не получавшие антибактериальное лечение до взятия ЖСУ.

Общее число леченных антибиотиками составило 120 пациентов (25%). Примечательно, что большинству (90%; 108/120) были назначены цефалоспорины, причем 70% (76/108) из числа этих пациентов получили цефтриаксон парентерально и только 7% (8/120) лечились амоксициллином (+/- клавуланат).

Для того чтобы исключить влияние приема антибиотиков на результаты микробиологического анализа, мы не включили в расчет этиологической структуры возбудителей ОСО пациентов, лечившихся антибиотиками (n=120), а также пациентов, которые не имели данных о приеме антибиотиков (n=69). Скорректированная таким образом частота положительных культуральных результатов составила 35% (124/352) (см. табл. 5.1, столбец «Не получали» антибиотик до взятия ЖСУ) и была статистически значимо выше по сравнению с пациентами, принимавшими антибиотик (21%; 25/120; Z=2,93, p=0,003). *S. pneumoniae* был выделен у 69% (86/124) пациентов с положительным культуральным результатом и стал наиболее распространенным возбудителем ОСО, остальные бактерии встречались заметно реже (табл. 5.1). Смешанные культуры были выявлены у 10% (12/124) пациентов. Наиболее часто обнаруживались комбинации с участием *S. pneumoniae*: в 5 случаях он сочетался с *H. influenzae* (из них в 1 случаев дополнительно был обнаружен *S. pyogenes*) и в 4 случаях – с *M. catarrhalis*.

Распределение патогенов отличалось между группами пациентов, не лечившихся и лечившихся и антибиотиками до взятия ЖСУ (см. табл. 5.1, столбцы «Не получали» и «Получали» антибиотик соответственно). Так, доля *S. pneumoniae*-положительного ОСО снизилась с 69% (86/124) до 44% (11/25) на фоне приема антибиотика (Z=2,43, p=0,015). Напротив, частота ОСО, вызванного *S. pyogenes*, была выше в группе с антибиотиками (44%, 11/25 *vs* 19%; 24/124; Z=2,65, p=0,008). Доля *H. influenzae* и *M. catarrhalis* не зависела от приема антибиотика.

Частота назначения антибиотиков была статистически значимо выше в группе пациентов с отореей по сравнению с пациентами после тимпаноцентеза (39%; 49/125 *vs* 20%, 65/327; χ^2=17,9, p<0,001). В группе пациентов, не получавших антибиотик, частота положительных культуральных результатов при оторее и

тимпаноцентезе различалась статистически незначимо (27%; 20/75 *vs* 38%, 99/263; χ^2=3,08, p=0,079), а распределение патогенов совпадало в обоих типах образцов (χ^2=2,00, p=0,573).

Результаты культурального исследования имели некоторые возрастные особенности (рис. 5.1). Среди пациентов, не получавших антибиотик, частота положительных результатов статистически значимо различалась в зависимости от возраста (χ^2=8,43, p=0,038) и варьировала от 27% (21/79) в возрастной группе ≤12 мес до 49% (32/65) у пациентов в возрасте 13-24 мес. В остальных возрастных группах частота положительного результата культурального исследования была сопоставимой (37%; 35/96 и 33%; 37/112 для групп 25-36 мес и >36 мес соответственно).

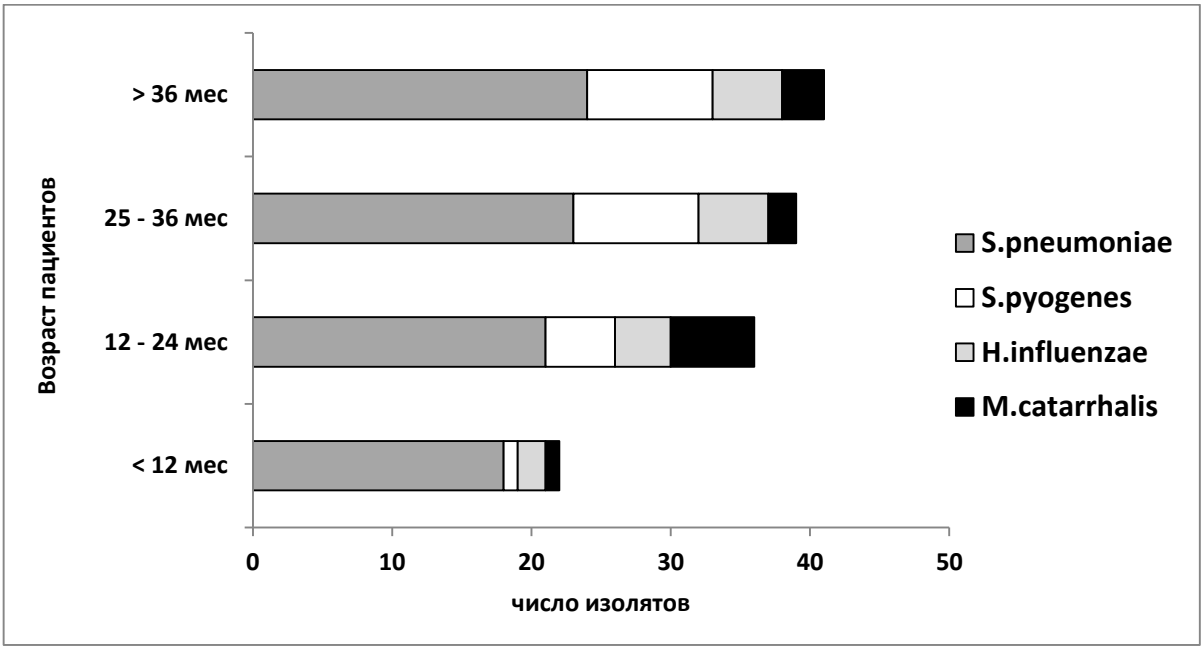


Рисунок 5.1. Распределение отопатогенов, выделенных из ЖСУ, в зависимости от возраста

Примечание. Число штаммов у пациентов различных возрастных групп: < 12 месяцев – n = 22/79; 13-24 месяцев – n = 36/65; 25-36 месяцев – n = 39/96; > 36 месяцев – n = 41/112.

Во всех возрастных группах доминирующим патогеном был *S. pneumoniae*, причем наиболее высокой его доля была у пациентов в возрасте ≤12 мес (82%; 18/22), в остальных возрастных группах его частота была близка к 60% (см. рис. 5.1). *S. pyogenes* чаще встречался в старших возрастных группах. Так, у пациентов

в возрасте >24 мес его доля составила 25% (18/72), тогда как в группе детей в возрасте ≤12 мес был выделен всего 1 штамм *S. pyogenes*. Частота встречаемости *H. influenzae* и *M. catarrhalis* во всех возрастных группах была схожа (рис. 5.1). Несмотря на величину указанных различий в распределении патогенов, они не были статистическим значимыми (χ^2=9,07, p=0,43).

Микробиота носоглотки у пациентов с ОСО и ее значение для этиологической диагностики ОСО

Этиология ОСО тесно связана с микрофлорой верхних дыхательных путей, поскольку распространению инфекции предшествует колонизация носоглотки [181,185]. В связи с этим мы провели исследование микробного пейзажа слизистой оболочки носоглотки у пациентов с ОСО. В анализ включены 305 носоглоточных мазков, собранных у пациентов с ОСО наряду с образцами ЖСУ (табл.5. 2). В 15% (45/305) образцов бактериальный рост не был получен, еще 40% (122/305) образцов содержали виды бактерий, которые мы расценивали как нормальную флору носоглотки.

Нормофлора была представлена преимущественно коагулазонегативными стафилококками, зеленящими стрептококками, различными видами энтеробактерий. Рост бактерий, ассоциируемых с этиологией ОСО, был зафиксирован в носоглоточных образцах у 45% (138/305) пациентов с ОСО (см. табл. 5.2). Преобладающим патогеном, как и в случае ЖСУ, стал *S. pneumoniae*, который был представлен в 44% (60/138) положительных носоглоточных образцов. Вторым по частоте выявления в материале из носоглотки стал *S. aureus*, доля которого составила 32% (44/138), далее расположились *H. influenzae* и *M. catarrhalis* (каждая по 21%, 29/138). *S. pyogenes* присутствовал в носоглоточных образцах почти в 2 раза реже (11%, 15/138), по сравнению с ЖСУ (табл. 5.1, 5.2).

Таблица 5.2. Микробный пейзаж носоглотки у пациентов с ОСО

Исследование микробиоты носоглотки	**n (%)**
Всего носоглоточных мазков	305 (100)

Положительный культуральный результат	Нет	167 (55)
	Да	138 (45)
Патогены при положительном культуральном результате:		
S. pneumoniae		60 (44)
S. pyogenes		15 (11)
S. aureus		44 (32)
H. influenzae		29 (21)
M. catarrhalis		29 (21)

Примечание. Сумма долей отопатогенов превышала 100%, поскольку в некоторых образцах ЖСУ присутствовали комбинации 2 или 3 патогенов, каждый из которых считали этиологически значимым.

В большинстве носоглоточных образцов (76%, 105/138) микробиота была представлена монокультурой, микробные ассоциации в виде сочетания 2-4 видов бактерий обнаружены в 24% (33/138) образцов. Наиболее часто встречалось сочетание *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis* (n = 8), а единственная четырех-компонентная ассоциация включала *S. pneumoniae, H. influenzae, S. aureus* и *S. pyogenes*.

Параллельное исследование носоглоточных мазков и ЖСУ позволило оценить влияние результата микробиологического анализа микрофлоры носоглотки на вероятность ОСО определенной этиологии (табл. 5.3). Описание механизма трансформации результатов, представленных в табл. 3, в посттестовую вероятность той или иной этиологии ОСО подробно представлено в разделе «Материалы и методы». Здесь проиллюстрируем логику расчетов с помощью данных по пневмококку.

Одновременно и в ЖСУ, и в носоглотке *S. pneumoniae* присутствовал у 35 из 66 пациентов с пневмококковым ОСО (доля истинно положительных результатов 35/66 = 0,53). У остальных пациентов с пневмококковым ОСО этот возбудитель не был выявлен в носоглотке. При этом *S. pneumoniae* присутствовал в носоглотке у 24 пациентов, у которых в ЖСУ пневмококк не высевался, еще у 215 пациентов *S. pneumoniae* отсутствовал в обоих локусах (доля ложноположительных результатов

24/(24+215) = 0,1). Таким образом, отношение правдоподобия (ОП) выявления пневмококка в носоглотке составило: ОП = 0,53/0,1 = 5,28. Претестовая вероятность пневмококковой этиологии ОСО соответствует доле пациентов, у которых был выявлен данный возбудитель, рассчитанной от общего числа пациентов с учетом случаев ОСО с отрицательными культуральными результатами. Исходя из этого, претестовая вероятность пневмококкового ОСО составила 22% (66/305), что соответствует Претест-Ш = 0,28. Таким образом, Посттест-Ш пневмококкового ОСО в случае выявления *S. pneumoniae* в носоглотке составляют 0,28 х 5,28 = 1,48, а посттестовая вероятность – 60% (табл. 5.3). При отсутствии *S. pneumoniae* в носоглотке вероятность пневмококковой этиологии ОСО снижается с 22% до 13%.

Таблица 5.3. Вероятность определения этиологии ОСО по результатам исследования микрофлоры носоглотки

Вид патогена	**Претестовая вероятность этиологии ОСО**	**Высев патогена (n пациентов)**					**Посттестовая вероятность этиологии ОСО в зависимости от высева патогена в носоглотке**	
		ЖСУ	+	+	-	-		
		Носоглотка	+	-	+	-		
		Интерпретация	ИП	ЛО	ЛП	ИО	Да	Нет
S. pneumoniae	22%		35	31	24	215	60%	13%
S. pyogenes	9%		10	17	3	275	75%	5%
H. influenzae	5%		6	9	18	272	25%	3%
S. aureus	5%		6	11	30	258	16%	4%
M. catarrhalis	3%		3	7	26	269	10%	2%

Примечание. ИП – истинноположительный, ЛО – ложноотрицательный, ЛП – ложноположительный, ИО – истинноотрицательный.

Помимо пневмококка, на посттестовую вероятность этиологии ОСО ощутимо влияет обнаружение в носоглотке *S. pyogenes*, повышая вероятность *S. pyogenes*-ассоциированного ОСО с 9% до 75% (табл. 5.3). Обнаружение других патогенов имеет меньшее прогностическое значение и в клиническом измерении слабо влияет на посттестовую вероятность этиологии. Отрицательные результаты (т.е. отсутствие того или иного патогена в носоглотке) практически не влияют на вероятность этиологии ОСО (табл. 5.3).

Таким образом, мы проанализировали бактериальную этиологию ОСО у

детей в возрасте младше 5 лет на основании результатов микробиологического исследования ЖСУ, полученной при спонтанной перфорации барабанной перепонки или тимпаноцентезе. Распределение патогенов в исследованной когорте пациентов отличалось от результатов предыдущих сообщений. Мы подтвердили лидирующую роль *S. pneumoniae* среди подтвержденных микробиологическими данными случаев ОСО (69% по выборке в целом). Вторым по частоте оказался *S. pyogenes*. Он был выделен у 26% пациентов с положительным культуральным исследованием, и его доля была даже выше (44%) в группе пациентов, лечившихся антибиотиком до взятия ЖСУ. Частота выделения *S. pyogenes* в нашем исследовании значительно превышала таковую для *H. influenzae* (12%) и *M. catarrhalis* (8%).

Параллельный микробиологический анализ ЖСУ и образцов из носоглотки позволил оценить вероятность определения этиологии ОСО по составу носоглоточной микрофлоры. Колонизация носоглотки *S. pneumoniae* или *S. pyogenes* повышает вероятность того, что именно эти бактерии являются причиной инфекции, до 60-75%, значение других патогенов менее очевидно. Отсутствие отопатогенов в носоглоточных культурах слабо влияет на вероятность бактериальной этиологии ОСО, поэтому его не следует учитывать при решении вопроса о необходимости антибиотикотерапии. В целом, эти результаты показывают, что микробиологический анализ микрофлоры носоглотки при ОСО имеет ограниченное значение для этиологической диагностики этой инфекции у конкретного пациента.

5.2. Серотипы и чувствительность к антибиотикам *S. pneumoniae* при остром среднем отите у детей в возрасте до 5 лет

Всего в исследование включено 107 штаммов пневмококков, выделенных из ЖСУ у пациентов с ОСО.

Среди 107 типированных штаммов пневмококка было выявлено 17 различных серотипов, однако доминировали всего 6 серотипов с распространенностью >5%, которые суммарно составили почти 80% распределения (табл. 1). В число ведущих серотипов вошли серотипы 19F (27%), 3 (12%), 6B (11%), 14 (11%), 19A (9%) и 23F (8%). Не было получено ни одного изолята с серотипом 1 или 5. Охват серотипов имеющимися ПКВ составил: ПКВ-7 – 66% (включает серотипы 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F и 23F), ПКВ-10 – 67% (дополнительно к ПКВ-7 включает серотипы 1, 5, 7F), ПКВ-13 – 93% (дополнительно к ПКВ-10 включает серотипы 3, 6A, 19A).

Структура распределения серотипов *S. pneumoniae*, выделенных из носоглотки у пациентов с ОСО (n = 60), практически совпадала с серотиповой структурой ЖСУ (рис. 5.2). Всего было определено 13 различных серотипов, а лидирующие позиции занимали те же серотипы, что и в ЖСУ, их суммарная доля составила 83%.

Во всех случаях, когда у пациента с двухторонним ОСО *S. pneumoniae* выделялся с обеих сторон (n = 21), в обоих образцах ЖСУ присутствовали идентичные серотипы. Различий в структуре серотипового состава *S. pneumoniae* при одно- и двухсторонних ОСО не наблюдалось.

У 32 из 35 (91%) пациентов с ОСО, у которых *S. pneumoniae* присутствовал как в ЖСУ, так и в носоглотке, серотипы в обоих локусах совпадали. У 3 пациентов в ЖСУ и носоглоточных образцах обнаружены разные серотипы *S. pneumoniae* (указываются в порядке ЖСУ и носоглотка): 12B и 3, 6A и 19F, 8 и 11A.

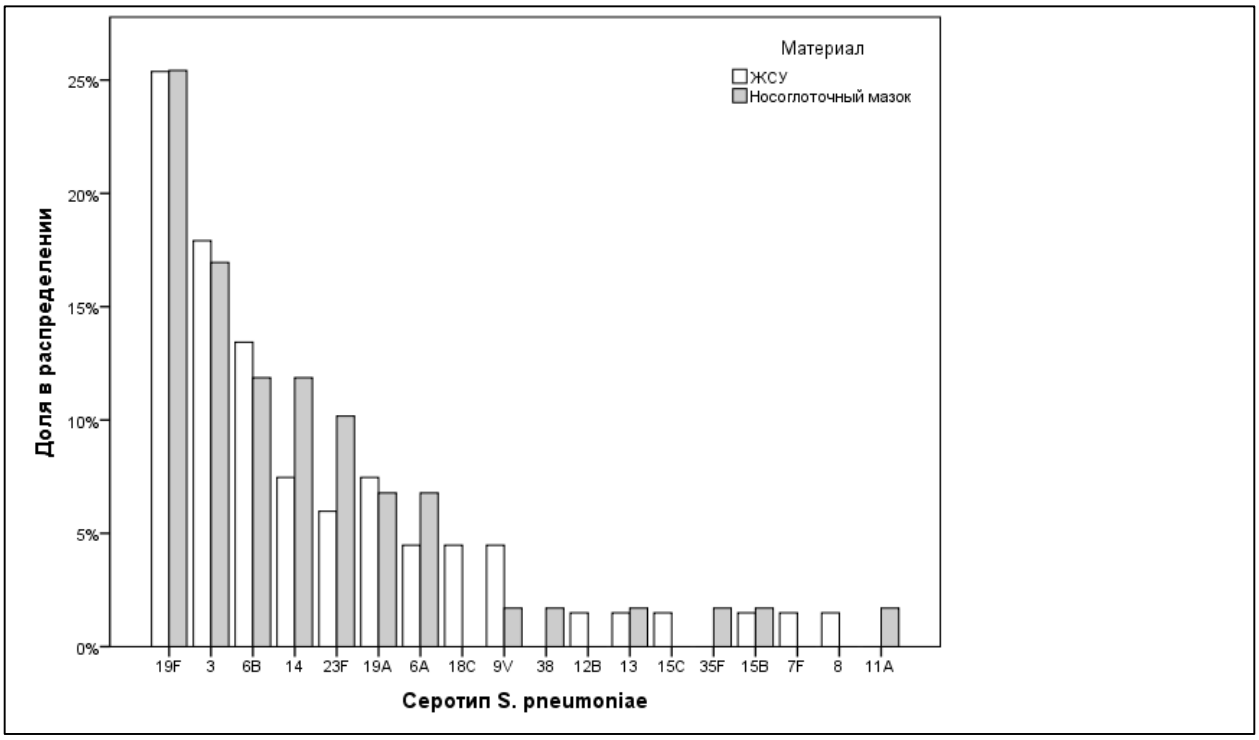


Рис. 5.2. Распределение серотипов *S. pneumoniae*, выделенных из ЖСУ и носоглотки у пациентов с ОСО

Примечание. Доля в распределении в каждой категории материала (ось Y) рассчитана по отношению к общему числу выделенных штаммов *S. pneumoniae* в этой категории: ЖСУ – n= 67, носоглотка – n= 60.

Чувствительность к антибиотикам определили у всех полученных изолятов *S. pneumoniae*. Результаты представлены в таблице 5.4. Для всех тестированных антибиотиков доля нечувствительных штаммов превышала 30%. Наиболее высокой была резистентность к триметоприму/сульфаметоксазолу (59%; 63/107).

Чувствительность к пенициллину и амоксициллину оценивали путем скринингового тестирования чувствительности к оксациллину (1 мкг) с помощью диско-диффузионного метода. Резистентностью к оксациллину обладали 46% (49/107) изолятов пневмококка. Последующий анализ с использованием Е-теста показал, что все оксациллин-резистентные пневмококки, кроме одного (45%; 48/107), были нечувствительны к пенициллину (МПК > 0,06 мкг/мл). МПК пенициллина ≥2 мкг/мл наблюдалась у 5% (5/107) штаммов. Распространенность нечувствительных к пенициллину изолятов была особенно высока среди главных

серотипов, включая серотипы 14 (10/12; 83%), 19A (8/10; 80%), 19F (19/29; 66%) и 23F (5/9; 56%) (см. табл. 5.4).

Таблица 5.4. Распределение серотипов по отношению к их охвату ПКВ-13 и устойчивость к антибиотикам штаммов *S. pneumoniae*, выделенных из жидкости среднего уха

Серотипы, n (%)		Нечувствительные штаммы, n				
		PEN	ERY	CLI	TMP/SMX	МУ*
19F	29 (27%)	19	15	14	23	14
3	13 (12%)	0	0	0	0	0
6B	12 (11%)	3	9	8	6	6
14	12 (11%)	10	6	5**	8	6
19A	10 (9%)	8	5	4**	9	5
23F	9 (8%)	5	1	1	5	1
6A	5 (5%)	2	0	0	5	0
18C	5 (5%)	0	0	0	0	0
9V	3 (3%)	1	0	0	3	0
4	1 (1%)	0	0	0	0	0
7F	1 (1%)	0	0	0	0	0
Не-ПКВ-13***	7 (7%)	0	0	0	4	0
Все серотипы, n (%)	**107 (100%)**	**48 (45%)#**	**36 (34%)**	**32 (30%)**	**63 (59%)**	**32 (30%)**

Примечание.

***** PEN – пенициллин; ERY – эритромицин; CLI – клиндамицин; TMP/SMX – триметоприм/сульфаметоксазол. МУ - множественная устойчивость (устойчивость к 3 или 4 исследованным группам антибиотиков).

** Индуцибельная резистентность (i-MLS_B фенотип) у 1 штамма.

*** Не-ПКВ-13 серотипы (n=7): 15C – n = 2; 8, 12B, 13, 15B, 39 – n = 1 для каждого.

Пенициллин: $МПК_{50}$ = 0,023 мкг/мл, $МПК_{90}$ = 1,5 мкг/мл.

МПК амоксициллина была определена для всех 49 оксациллин-резистентных изолятов. Для большинства исследованных штаммов (80%; 39/49) МПК амоксициллина составила ≤0,5 мкг/мл, у 9 штаммов МПК была 1 мкг/мл, у 1 изолята МПК равнялась 2 мкг/мл. Ни одного амоксициллин-резистентного штамма пневмококка (МПК >2 мкг/мл) обнаружено не было.

Уровни резистентности к эритромицину и клиндамицину были близки (34%; 36/107 и 30%; 32/107 соответственно). Основным молекулярным механизмом резистентности к макролидам была модификация мишени за счет наличия гена *ermB*. Этот ген присутствовал более чем у 90% (33/36) эритромицин-резистентных штаммов как единственная детерминанта резистентности (у 16/36 изолятов) или в сочетании с геном эффлюкса *mef* (у 17/36 изолятов). Лишь 2 из 36 эритромицин-резистентных пневмококков имели только ген *mef*. Большинство макролид-резистентных штаммов обладали также устойчивостью к клиндамицину (89%; 32/36).

Из 32 клиндамицин-резистентных изолятов 2 штамма обладали наведенной резистентностью (устойчивость к клиндамицину в присутствии эритромицина), т.е. индуцибельным MLS_B-фенотипом (одновременная устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам, стрептограмину В) [154]. Большая часть изолятов серотипа 6В была резистентной как к эритромицину, так и к клиндамицину (см. табл. 5.4).

Множественная устойчивость к антибиотикам, т.е. нечувствительность к 3 или 4 исследованным классам антибиотиков, наблюдалась у 30% (32/107) исследованных штаммов пневмококка (см. табл. 5.4). К числу серотипов с множественной устойчивостью относились серотипы 6В, 14, 19А и 19F, при этом доминировали представители серогруппы 19 (59%; 19/32). Примечательно, что именно к этой серогруппе принадлежали изоляты с высокой МПК пенициллина (≥2 мкг/мл) и амоксициллина (≥1 мкг/мл) (таблица 5.4). Пневмококки серотипов 3 и 18С были чувствительны ко всем тестированным антибиотикам. Ни один из не-ПКВ-13 серотипов не обладал множественной устойчивостью к антибиотикам.

Мы проанализировали также чувствительность к антибиотикам трех других

отопатогенов. Все 20 выделенных штаммов *H. influenzae* были чувствительны к ампициллину, азитромицину и цефотаксиму. Лишь один из 44 штаммов *S. pyogenes* был резистентным к эритромицину и еще один – к хлорамфениколу. Все изоляты *M. catarrhalis* (n = 14) были устойчивы к пенициллину и продуцировали бета-лактамазу, но сохраняли чувствительность к амоксициллину-клавуланату, макролидам и цефалоспоринам.

Таким образом, в данной главе мы представили результаты серотипирования и определения чувствительности к антибиотикам пневмококков, полученных из ЖСУ у детей с ОСО. Существенная доля изученных штаммов характеризовалась нечувствительностью к антибиотикам. Снижение чувствительности к пенициллину было отмечено у 45% изолятов, 34% были резистентным к эритромицину, а 30% пневмококков обладали множественной устойчивостью к антибиотикам. В исследовании Л.К. Катосовой и соавт., опубликованном в 2006 г. [165], в коллекции из 37 ЖСУ-пневмококков был выявлен лишь 1 пенициллин-нечувствительный изолят и ни одного резистентного к макролидам. Кроме того, работы, проведенные в конце 1990-х и на протяжении 2000-х годов в смоленском НИИ антимикробной химиотерапии, показали чувствительность к пенициллину и эритромицину примерно у 90% носоглоточных изолятов пневмококка [83,164]. Очевидно, что распространенность нечувствительных к антибиотикам пневмококков заметно возросла в последние годы. Тревожно и то, что за это время популяция пневмококков накопила множественные детерминанты резистентности, как например двойственная устойчивость к макролидам за счет комбинации генов *ermB* и *mef*.

Ведущими серотипами *S. pneumoniae*, выделенными из ЖСУ, стали серотипы 19F, 3, 6B, 14, 19A и 23F, которые в сумме заняли более 80% всего распределения.

Состав серотипов *S. pneumoniae*, выделенных из ЖСУ и носоглотки, совпадал более чем в 90% случаев. Присутствие конкретного серотипа в носоглотке не доказывает его этиологической роли, однако такое совпадение свидетельствует в пользу того, что инфекцию вызывает серотип, колонизирующий носоглотку. Таким

образом, исследуя серотиповой пейзаж *S. pneumoniae* в носоглотке у пациентов с ОСО, можно с высокой долей определенности судить и о серотипах, присутствующих в ЖСУ.

5.3. Мультилокусное сиквенс-типирование (МЛСТ) штаммов пневмококка с множественной устойчивостью к антибиотикам

Несмотря на разнообразие капсульных типов пневмококка (их описано более 90), антибиотикорезистентность не распределяется равномерно среди всех серотипов. Резистентные пневмококки принадлежат к ограниченному числу клонов (или клональных линий), которые включают лишь несколько серотипов. С другой стороны, отдельный серотип может быть представлен в составе разных клонов, не являющихся родственными и отличающихся по степени резистентности [182,186,187]. Семивалентная пневмококковая конъюгированная вакцина (ПКВ-7) оказала выраженный эффект на сероэпидемиологию пневмококка, практически прекратив циркуляцию вакцинных серотипов и существенно снизив заболеваемость пневмококковыми инфекциями, в том числе ОСО, в тех странах, где она применяется [53,188,189]. Вместе с тем, в последние годы стали появляться сообщения о распространении в поствакцинальный период резистентных не-ПКВ-7 серотипов, в первую очередь серотипа 19A, принадлежащего к клональному комплексу (clonal complex, CC) 320 [136,188,190]. Этот феномен замещения серотипов может реализовываться через механизм переключения капсулы и экспансии резистентных генотипов, существовавших до внедрения ПКВ [90,187,191]. В связи с этим выявление и молекулярная характеристика клонального разнообразия устойчивых к антибиотикам пневмококков представляется более перспективным подходом для прогнозирования эволюции и распространения резистентности, чем простое серотипирование отдельных штаммов.

Выявленные штаммы пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам (n = 32) генотипировали с помощью МЛСТ. Клональная структура этих штаммов с указанием серотипа и профиля резистентности представлена в таблице 5.5. Всего было обнаружено 13 известных сиквенс-типов, принадлежащих к 8 клональным комплексам, а также 3 новых сиквенс-типа, имеющих связь с CC320, и 1 синглетон (генотип-«одиночка», не принадлежащий ни к одному из известных клональных комплексов).

Таблица 5.5. Клональная структура штаммов S. *pneumoniae* с множественной устойчивостью к антибиотикам, выделенных из ЖСУ, их серотиповая принадлежность и чувствительность к антимикробным препаратам

№	Клональный комплекс (глобальный клон – родоначальник комплекса)	ST	Серо-тип	PEN	AMX	ERY	CLI	TMP/ SMX	erm/mef
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
1	**CC320 (Taiwan^{19F}-14)**	320	19A	1,5	2	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
2		320	19F	4	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
3		320	19F	1	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
4		320 SLV*	19F	2	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
5		320 SLV*	19F	1	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
6		320 SLV*	19F	1,5	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
7		320 SLV*	19F	1,5	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
8		320 SLV*	19F	1,5	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
9		320 SLV#	19A	2	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
10		320 DLV^	19F	4	1	Н/ч	Ч	Н/ч	mef+
11	**Синглетон**	Но-вый**	19F	4	1	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
12	**CC236 (Taiwan^{19F}-14)**	236	19F	0,19	0,25	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
13		236	19F	0,19	0,12	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
14		236	19F	0,38	0,12	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
15	**CC193 (Greece^{21}-30)**	179	19F	0,5	0,25	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
16		177	19F	0,01	S***	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
17	**CC230 (Denmark^{14}-32)**	276	19A	0,25	0,25	Н/ч	Н/ч ##	Н/ч	erm+/mef+
18		5539	19A	0,5	0,03	Н/ч	Ч	Н/ч	mef+
19	**CC156 (Spain^{9V}-3)**	790	19A	1	0,25	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+
20		790	14	1,5	0,25	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
21		790	14	1	0,5	Н/ч	Н/ч ##	Н/ч	erm+
22		865	14	1	0,5	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
23		865	14	1,5	0,25	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
24		865	14	1	0,5	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
25	**CC15 (England^{14}-9)**	15	14	0,75	0,12	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
26	**CC315 (Poland^{6B}-20)**	315	6B	0,12	0,03	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
27		315	6B	0,02	S***	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
28		315	6B	0,03	S***	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
29		315	6B	0,13	0,03	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
30		1032	6B	0,02	S***	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+
31		386	6B	1	0,5	Н/ч	Н/ч	Ч	erm+
32	**CC81 (Spain^{23F}-1)**	81	23F	1	0,25	Н/ч	Н/ч	Н/ч	erm+/mef+

Примечание. ST (sequence type) – сиквенс-тип; PEN – пенициллин; AMX – амоксициллин; ERY – эритромицин; CLI – клиндамицин; TMP/SMX – триметоприм/сульфаметоксазол. Ч – чувствительный; Н/ч – нечувствительный. SLV (single locus variant) – однолокусный вариант, DLV (double locus variant) – двулокусный вариант. *erm/mef* – наличие соответствующей детерминанты резистентности к макролидам обозначена знаком «+».

* Новый сиквенс-тип ST9659. Все 5 штаммов являются однолокусным вариантом ST320, обладая идентичной новой последовательностью локуса *dll* (№610).

Новый сиквенс-тип ST9656. Однолокусный вариант ST320 по локусу *rec* (новая последовательность *rec* №257).

^ Новый сиквенс-тип ST9657. Двулокусный вариант ST320 по локусам *aro (*последовательность №7) и *dll* (новая последовательность *ddl* №608).

** Новый сиквенс-тип ST9658 с профилем МЛСТ: *aro* 7, *gdh* 13, *gki* 8, *rec* 15, *spi* 6, *xpt* 6, *ddl* – новая последовательность №609.

*** МПК амоксициллина тестировали только у пенициллин-нечувствительных штаммов (МПК пенициллина > 0,06 мкг/мл).

Индуцибельная резистентность (i-MLS_B фенотип).

В нашей выборке преобладали представители CC320 (31%, 10/32). Они включали 3 изолята с ST320, 6 однолокусных вариантов (single locus variant, SLV) и 1 двулокусный вариант (double locus variant, DLV) этого сиквенс-типа. Примечательно, что 5 из 6 SLV обладали идентичным вариантом последовательности локуса *dll* и принадлежали к единственному новому сиквенс-типу, который ранее не бал описан в базе данных PMEN (табл. 5.5). Большинство изолятов CC320 имели серотип 19F (8/10), а 2 из 10 изолятов – серотип 19A. Все CC320-пневмококки характеризовались высокими МПК пенициллина и амоксициллина (≥1 мкг/мл). Кроме того, 9/10 этих штаммов являлись носителями комбинации детерминант устойчивости к макролидам *ermB* и *mef*, что обуславливало их MLS_B-фенотип. Один штамм (DLV ST320) был носителем гена *mef* и сохранял чувствительность к клиндамицину (табл. 5.5). Изолят-синглетон с серотипом 19F демонстрировал высокую МПК пенициллина (4 мкг/мл) и имел обе детерминанты резистентности к макролидам.

Оставшиеся изоляты серогруппы 19 (n = 8) принадлежали к 4 различным клональным комплексам, включая CC236 (n = 3), CC193 (n = 2), CC230 (n = 2) и CC156 (n = 1). В этой группе МПК к пенициллину отличалась сравнительно низким уровнем (все МПК ≤0,5 мкг/мл, за исключением 1 штамма из CC156 с МПК пенициллина 1 мкг/мл), а 3/8 изолятов обладали единственной детерминантой резистентности к макролидам (у 2 был ген *ermB*, у 1 – ген *mef*).

Клональный комплекс CC156 (клон $Spain^{9V}$-3) был представлен пневмококками ST790 и ST865 (n=3 каждый). Большинство (5/6) этих изолятов относилось к серотипу 14 и было носителем *ermB* как единственной детерминанты резистентности к макролидам, а один изолят обладал индуцибельным MLS_B-фенотипом. Оставшийся CC156-изолят с ST790 обладал капсулой 19A и двойным механизмом резистентности к макролидам. Все пневмококки CC156 демонстрировали высокую МПК пенициллина (≥1 мкг/мл). Один штамм с серотипом 14 имел ST15 и относился к CC15 (см. табл. 5.5).

Клональный комплекс CC315 был представлен 6 изолятами (все с серотипом 6B) и 3 сиквенс-типами, которые включали ST315 (n = 4), ST1032 и ST386 (n = 1

каждый). Лишь один штамм имел высокую МПК пенициллина (1 мкг/мл), но был чувствителен к триметоприму/сульфаметоксазолу. Остальные были чувствительны к пенициллину или обладали невысоким уровнем МПК.

Один изолят с множественной устойчивостью с серотипом 23F имел ST81 и представлял CC81 (см. табл. 5.5).

Таким образом, анализ клональной структуры пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам показал преобладание изолятов, относящихся к CC320. Этому клональному комплексу принадлежало большинство пневмококков с высокими МПК пенициллина и амоксициллина. В нашей выборке генотипированных пневмококков мы также наблюдали перечисленные клональные комплексы, однако они встречались гораздо реже. Десять из 32 пневмококков с множественной устойчивостью принадлежали к CC320, из них 3 изолята имели ST320, а у 7 изолятов были обнаружены новые сиквенс-варианты ST320. Отметим, что 6 из 7 этих пневмококков отличались от ST320 по последовательности локуса *dll*, причем 5 из них обладали идентичной новой последовательностью *dll* аллеля. Дивергентные последовательности по локусу *dll* ассоциируются со структурными вариантами пенициллинсвязывающего белка 2b, вызывающими резистентность к пенициллину. До настоящего времени в PMEN не было депонировано ни одного изолята из России с сиквенс-типом ST320, т.е. штамм пневмококка серотипа 19A с ST320, обнаруженный в ходе настоящей работы, является первым пневмококком такого рода, выявленным в нашей стране.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В проведенном исследовании определены серотиповой состав и чувствительность к антибиотикам изолятов *S. pneumoniae*, выделенных в носоглоточных мазках у носителей, а также в жидкости среднего уха у детей младшего возраста с острым средним отитом. Кроме того, представлена клональная структура полученных штаммов пневмококка, обладающих множественной устойчивостью к антибиотикам. Эти данные могут быть использованы для мониторирования изменений сероэпидемиологии и резистентности пневмококка после начала массовой вакцинации от пневмококковых инфекций, включенной в российский календарь иммунизации в 2014 г. [192].

Носоглоточное носительство S. pneumoniae у детей младшего возраста

В 3 и 4 главах работы представлены данные о носительстве *S. pneumoniae* в различных группах детей в возрасте до 5 лет. Частота носоглоточного носительства пневмококка у здоровых детей младшего возраста составила 23%. У детей той же возрастной группы, госпитализированных в стационары по поводу острых респираторных бактериальных инфекций, пневмококк выявлялся в носоглотке с той же частотой: у 24% детей. Оба исследования (у детей с острыми инфекциями и у здоровых носителей) были проведены в разные годы в г. Москве, при этом распространенность носительства и серотиповое разнообразие выделенных изолятов пневмококка не отличались. Наши данные согласуются с результатами других исследований, проведенных в различные годы, которые показывают, что частота носительства пневмококка является стабильной в до- и поствакцинальную эпоху. Согласно данным литературы, распространенность носоглоточной колонизации пневмококком у детей до 5 лет оценивается в диапазоне 23 – 56% [30-32].

В спектре бактериальной колонизации носоглотки доля *S. pneumoniae* составила 31% у здоровых детей и 47% у детей с острыми респираторными

бактериальными инфекциями[2].

Проведенное исследование показало высокую частоту носоглоточного носительства условно-патогенной микрофлоры у детей из закрытых и полузакрытых детских коллективов, что объясняется большим числом и плотностью контактов со сверстниками. Частота выявления в носоглотке 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 двумя другими группами обследованных носителей. *S. pneumoniae* высевался из носоглотки одинаково часто у детей из детского сада (24%) и детского дома (26%), тогда как у неорганизованных детей носительство пневмококка отмечено лишь в 15% случаев. Доля *H. influenzae* и *M. catarrhalis* также была значимо выше в спектре носоглоточного носительства у воспитанников детского дома и детей, посещающих детский сад, по сравнению с неорганизованными. Рост потенциально непатогенной флоры (нормофлоры) отмечен у половины неорганизованных детей (52%), у трети детей из детских садов (29%) и не был выявлен ни у одного из воспитанников детского дома. Вместе с тем частота микробных ассоциаций респираторных патогенов была существенно выше у детей из закрытого коллектива (58%), чем у детей из полузакрытого коллектива (19%) и у неорганизованных детей (8%).

При изучении спектра микробного носительства у здоровых детей младшего возраста ни в одном образце биоматериала из носоглотки мы не выявили роста *S. pyogenes*. Вместе с тем *S. pyogenes* являлся значимым патогеном у детей при бактериальных респираторных инфекциях, в том числе при острых средних отитах (глава 4 и 5). Бессимптомное носительство бета-гемолитического стрептококка группы А распространено у детей старшего дошкольного возраста и школьников, в этом возрасте оно достигает 12% [163]. Напротив, в первые годы жизни тонзиллиты и фарингиты, обусловленные пиогенным стрептококком, возникают

[2] Доля пневмококка в структуре других патогенов при положительном результате культурального исследования образцов биоматериала из носоглотки

крайне редко. Вероятно, в этом возрасте этот патоген выступает как облигатный и выявляется только при острых инфекциях.

Не было выявлено зависимости микробного спектра у носителей от проводившейся в недавний период времени антимикробной терапии, что, по всей вероятности, свидетельствует о быстрой колонизации носоглотки после проведения лечения антибиотиками. При этом плотность колонизации тесно связана с большим количеством контактов и возможностью передачи респираторных патогенов у «коллективных» детей.

Роль S. pneumoniae в этиологии острого среднего отита у детей младшего возраста

Бактериальная этиология ОСО у детей младше 5 лет проанализирована на основании результатов микробиологического исследования ЖСУ, полученной при спонтанной перфорации барабанной перепонки или тимпаноцентезе. Распределение патогенов в исследованной когорте пациентов отличалось от результатов предыдущих сообщений. В нашем исследовании была подтверждена лидирующая роль *S. pneumoniae* среди подтвержденных микробиологическими данными случаев ОСО, его доля составила 69%. Вторым по частоте оказался *S. pyogenes*. Он был выделен у 19% пациентов с положительным культуральным исследованием, не получавших антибиотики до микробиологического исследования. Частота выделения *S. pyogenes* в нашем исследовании значительно превышала таковую для *H. influenzae* (13%) и *M. catarrhalis* (9%).

По данным литературы, доля *S. pyogenes* в структуре бактериальных отопатогенов обычно не превышает 1-5% [180,193]. Более высокую распространенность (8-17%) этот возбудитель имеет при осложненном течении ОСО, а также у пациентов со спонтанной отореей [150,194]. Острый средний отит, ассоциированный с *S. pyogenes*, чаще встречается у старших детей и характеризуется склонностью к перфоративному течению и развитию мастоидита [180,193]. В нашей когорте пациентов *S. pyogenes*-ассоциированный ОСО встречался преимущественно у детей в возрасте старше 12 мес, а частота выделения этого возбудителя при оторее и тимпаноцентезе не различалась.

S. pyogenes был наиболее распространенным патогеном, выделяемым в ЖСУ у пациентов с ОСО, в первой половине 20-ого века [180,193]. В последние годы в структуре бактериальных возбудителей ОСО в большинстве стран лидируют *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. catarrhalis* [157,195,196]. Наши данные свидетельствуют о том, что снижающаяся доля *S. pyogenes* в этиологической структуре ОСО не является универсальным трендом. Относительно высокая встречаемость *S. pyogenes* была ранее отмечена в работе Катосовой Л.К. и соавт. [197]. Данное исследование было проведено также в г.Москве и показало, что у пациентов с тяжелым гнойным ОСО (n=161) *S. pyogenes* преобладал над *S. pneumoniae* в структуре возбудителей (48% vs 37% соответственно у пациентов с положительным результатом культурального исследования); доля *H. influenzae* при этом составила <5%.

Параллельный микробиологический анализ ЖСУ и образцов из носоглотки позволил оценить вероятность определения этиологии ОСО по составу носоглоточной микрофлоры. Колонизация носоглотки *S. pneumoniae* или *S. pyogenes* повышает вероятность того, что именно эти бактерии являются причиной инфекции, до 60-75%, значение других патогенов менее очевидно.

Серотиповое разнообразие штаммов S. pneumoniae

При анализе серотипового спектра штаммов *S.pneumoniae* у всех включенных в исследование групп детей выявлено преобладание обычных, так называемых «педиатрических» серотипов 19F, 6A и 6B, 23F, 14, которые составили > 75% распределения в разных когортах обследованных (рис. 6.1). Наиболее часто встречался серотип 19F, его доля в серотиповом спектре превышала 20%. У детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями а носоглоточных образцах, а у пациентов с острым средним отитом в образцах ЖСУ также часто встречался 3 серотип, его доля в общей структуре превышала 10%. Частота выявления 3 и 19A серотипов в жидкости среднего уха значительно превышала таковую при носоглоточном носительстве.

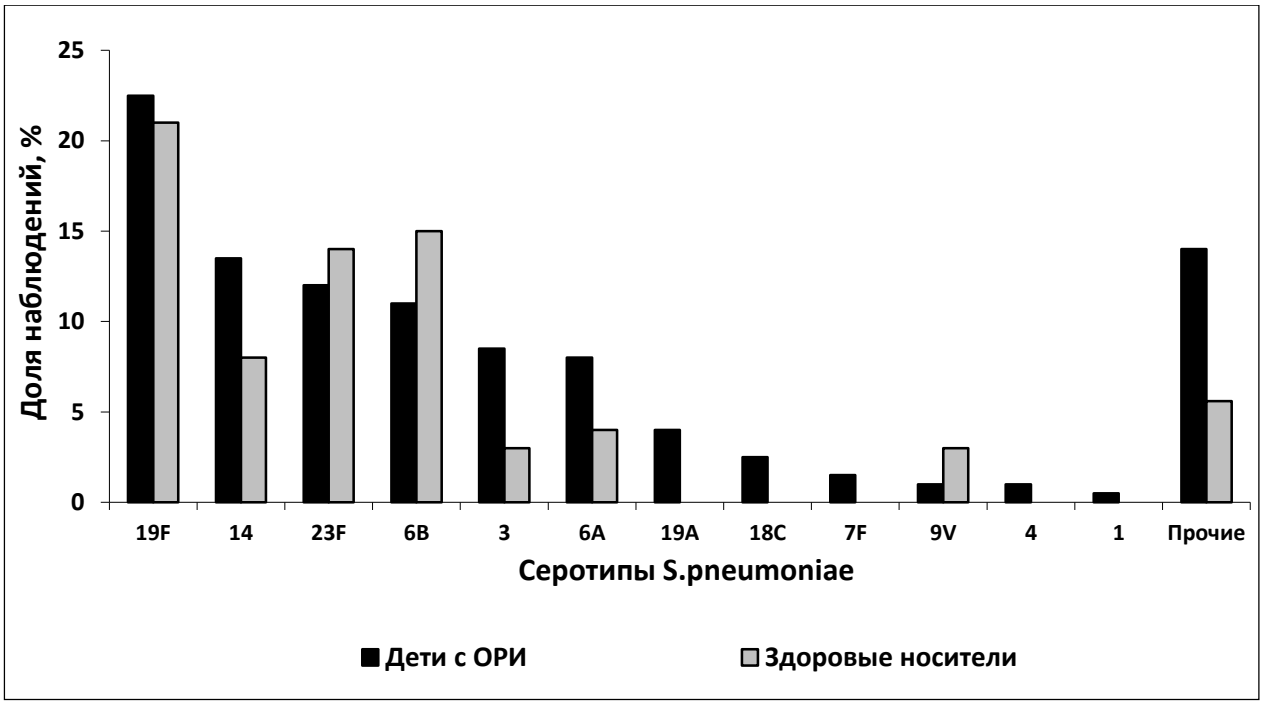


Рис. 6.1. Распределение серотипов *S. pneumoniae*, выделенных из носоглотки у здоровых детей и пациентов с острыми респираторными бактериальными инфекциями в возрасте до 5 лет

Примечание. ОРИ – острые респираторные инфекции

Доля в распределении в каждой категории материала (ось Y) рассчитана по отношению к общему числу выделенных штаммов *S. pneumoniae* в этой категории: дети с ОРИ – n = 200, здоровые носители – n= 54.

Структура распределения серотипов *S. pneumoniae*, выделенных из носоглотки у пациентов с ОСО, более чем на 90% совпадала с серотиповой структурой ЖСУ. Всего было определено 13 различных серотипов, а лидирующие позиции занимали те же серотипы, что и в ЖСУ, их суммарная доля составила 83%. Присутствие конкретного серотипа в носоглотке не доказывает его этиологической роли, однако такое совпадение свидетельствует в пользу того, что инфекцию вызывает серотип, колонизирующий носоглотку. Таким образом, исследуя серотиповой пейзаж *S. pneumoniae* в носоглотке у пациентов с ОСО, можно с высокой долей определенности судить и о серотипах, присутствующих в ЖСУ.

Ведущими серотипами *S. pneumoniae*, выделенными из ЖСУ, стали серотипы 19F, 3, 6B, 14, 19A и 23F, которые в сумме заняли более 80% всего распределения.

Не было получено ни одного изолята с серотипом 1 или 5. Полученные данные в целом согласуются с мировыми и отечественными исследованиями, в которых указывается на ведущую роль при пневмококковом ОСО этих же серотипов [53,72,164,190,195,196,198-201]. К особенностям полученного нами серотипового пейзажа по сравнению с другими странами следует отнести более весомое место стеротипа 3, который составил 12% (13/107) в структуре серотипов. До начала применения ПКВ-7 доля этого серотипа в большинстве стран не превышала 3-6% [53], в Японии – 9% [202], а в сообщениях из Мексики и Румынии о выявлении 3 серотипа вообще не упоминалось [195,196].

Прогнозирование эффективности вакцинации от пневмококковых инфекций

Данные об актуальных серотипах пневмококка, циркулирующих в РФ, важны для оценки эффективности вакцинации от пневмококковых инфекций после ее введения в отечественный календарь иммунизации, поскольку позволяют оценить перекрытие серотипов существующими вакцинами. Реальная эффективность применяемых пневмококковых вакцин может быть оценена, исходя из соответствия их состава серотипам *S. pneumoniae,* циркулирующим в конкретном регионе. При отсутствии эпидемиологических данных о циркулирующих в стране серотипах пневмококка не следует безоговорочно экстраполировать данные об их эффективности в других странах и регионах.

В странах, где была внедрена вакцинация ПКВ7, вакцинные штаммы пневмококка практически исчезли [188,191]. Результаты наших исследований показывают совпадение спектра циркулирующих серотипов на 63,5 - 81% для ПКВ7 и ПКВ10 и на 86 - 93% для ПКВ13 в различных когортах детей младшего возраста (табл. 6.1).

Похожие результаты были получены в других отечественных исследованиях. По данным Р.С. Козлова, проведенном в 2007 – 2009 гг в 18 городах РФ, при исследовании 584 штаммов пневмококков, выделенных от детей первых пяти лет жизни с различными клиническими формами инфекции и

носителей, соответствие циркулирующих серотипов составило 80,4%, 80,7% и 84,6% для 7-, 10- и 13-валентной вакцин соответственно [164]. Преобладающими при этом были те же «педиатрические» штаммы пневмококка при лидирующей позиции 19 серогруппы. В этом же исследовании соответствие серотипов, полученных из жидкости среднего уха, вакцинным было очень низким и составило 56,5%, 56,5% и 66,7% соответственно для 7-, 10- и 13-валентной вакцин. Однако данная структура базировалась на исследовании только лишь 39 штаммов. Вместе для распространенных в РФ серотипов инвазивных пневмококковых инфекций предполагаемая эффективность вакцин может достигать 71,4%, 92,8% и 100% для 7-, 10- и 13-валентной вакцин соответственно.

Таблица 6.1. Совпадение спектра циркулирующих серотипов *S. pneumoniae* в исследованных когортах детей с серотипами, включенными в современные конъюгированные пневмококковые вакцины (% охвата вакцинными серотипами)

ПКВ	**Серотипы *S. pneumoniae* при носоглоточном носительстве**		**Серотипы S. pneumoniae в ЖСУ у детей с острым средним отитом**
	здоровые дети	**больные ОРИ**	
ПКВ7	**81**	**63,5**	**66**
ПКВ10	**81**	**63,5**	**67**
ПКВ13	**90**	**86**	**93**

Примечание. ОРИ – острые респираторные инфекции

Штаммы, входящие в состав современных ПКВ:

ПКВ7: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F и 23F

ПКВ10: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F + 1, 5, 7F

ПКВ13: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F + 1, 5, 7F + 3, 6A, 19A

В исследовании, проведенном у детей с острыми отитами и пневмониями в Санкт-Петербурге, ожидаемая эффективность ПКВ7 оценена как 75%, а ПКВ13 – как 95,1%, что сопоставимо с нашими данными [167]. Более того, ПКВ покрывают подавляющее большинство самых антибиотикоустойчивых серотипов, обладающих множественной устойчивостью (ПКВ7 и ПКВ10 – на

88%, а ПКВ13 – на 97%). С учетом того, что инвазивным пневмококковым инфекциям обязательно предшествует колонизация возбудителем нестерильных локусов, наши данные позволяют прогнозировать хорошую эффективность ПКВ в РФ.

Учитывая отсутствие массовой вакцинации от пневмококка в нашей стране[3], исследования, проведенные в Москве и Санкт-Петербурге с 2010 года (включая данные, представленные в нашей работе), а также исследования в 1990-е годы показывают, что спектр серотипов *S. pneumoniae* у носителей остался стабильным. Серотипы пневмококка, выделенные из респираторного тракта у больных острой внебольничной пневмонией, согласно российским исследованиям, как в 1990 г., так и в последние годы на 80% представлены одинаковой структурой, несколько различаясь в частоте отдельных штаммов в разные периоды [165,167,203]. Изменение спектра циркулирующих серотипов пневмококка можно ожидать при введении массовой вакцинации в РФ.

Инвазивные инфекции S. pneumoniae

В нашем исследовании, проведенном в когорте детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями, культуральным методом в крови и спинномозговой жидкости выделено 11 истинно инвазивных штаммов различных микроорганизмов, в том числе 4 штамма S.pneumoniae. Еще в двух случаях (1 образец крови и 1 образец ликвора) пневмококк был выявлен методом ПЦР-диагностики (LytA+) при отрицательном результате культурального метода. Таким образом, в исследовании было отмечено 6 случаев инвазивных пневмококковых инфекций у госпитализированных детей. Несмотря на небольшое число зарегистрированных в нашем исследовании инвазивных пневмококковых инфекций, необходимо отметить тяжесть их течения. Один ребенок из числа пациентов с верифицированной ИПИ умер.

При исследовании инвазивных штаммов *S. pneumoniae* мы выявили серотипы 14, 23F, 3 и 15C. Распределение серотипов, ответственных за инвазивные

[3] Вакцинопрофилактика пневмококковых инфекций была введена в Российский национальный календарь в 2014 году, началась массовая вакцинация фактически лишь с конца 2014 года.

пневмококковые инфекции, отличается от распределения «неинвазивных» серотипов. В Европе при этих инфекциях чаще других выделяются серотипы 14, 6B, 1, 19F, 23F [7,8]. Серотипы 1 и 14, а также серотипы 3 и 5 относятся к наиболее вирулентным и чаще вызывают тяжелые пневмонии с плевритом и деструкцией, что отмечают как отечественные, так и зарубежные исследователи [7,165]. Серотипы 1 и 5 получили название эпидемических серотипов в связи с тем, что нередко вызывают вспышки пневмококковых инфекций в развивающихся странах.

Устойчивость штаммов S. pneumoniae к антибиотикам и клиническая практика назначения антибактериальной терапии

Проведенный анализ антибиотикорезистентности заставляет серьезно задуматься о повседневной клинической практике назначения антибиотиков в нашей стране. Результаты нашего исследования показывают существенное нарастание устойчивости пневмококка к антибиотикам пенициллинового ряда, макролидам, ТМП/СМЗ, клиндамицину, заметное даже в течение периода реализации этапов настоящего исследования с 2011 по 2014 гг.

Доля штаммов со сниженной чувствительностью или резистентностью в 2013-14 гг. составила к пенициллину 48% против 37% в 2011-12гг., к эритромицину были резистентны 40% изолятов против 31% в 2011-12гг. (см. рис. 6.2).

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 [204,205]. Доля пенициллин-резистентных штаммов *S. pneumoniae* была менее 10%, устойчивыми к макролидам были около 5% штаммов, а полирезистентность наблюдалась только у 2% изолятов. Уровень резистентности к ТМП/СМЗ был сопоставим с нашими наблюдениями (53%-65%). Таким образом, в последние годы резистентность *S. pneumoniae* 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% [177-179].

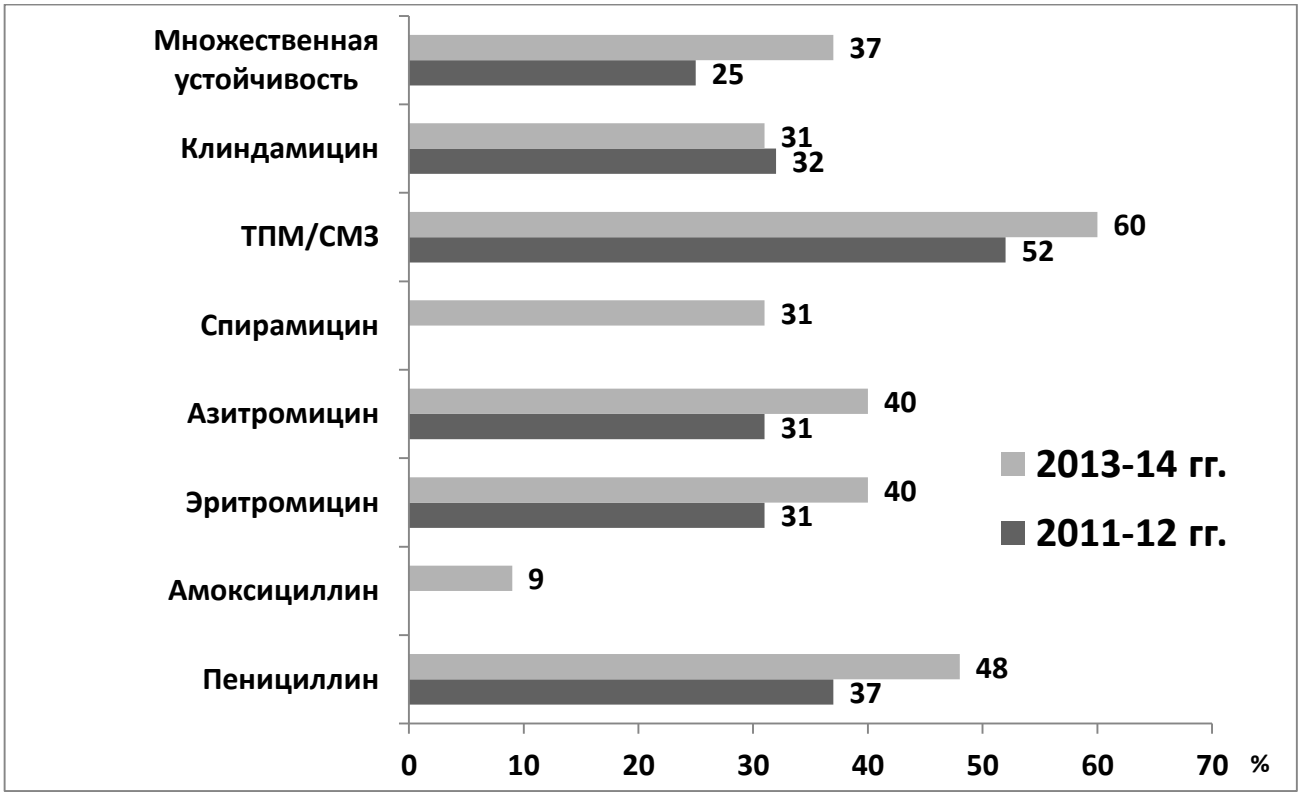


Рис. 6.2. Чувствительность к антибиотикам штаммов *S. pneumoniae*, выделенных при носоглоточном носительстве в различные годы (2011-12 гг., n = 199; 2013-14 гг., n = 54)

Наше исследование показало существенное нарастание нечувствительности пневмококка к антибиотикам, заметное даже в течение периода реализации этапов настоящего исследования с 2011 по 2014 гг. Доля штаммов со сниженной чувствительностью или резистентностью пенициллину в 2012 г. составила 37%, а в 2014 г. - 48%; к эритромицину в 2014 г. были резистентны 40% изолятов против 31% в 2012 г. Устойчивость к клиндамицину и триметоприму/сульфаметоксазолу выросла незначительно.

Ситуация с резистентностью пневмококка к макролидам требует особых комментариев. Данные многоцентрового проспективного исследования ПеГас за период 1999-2009 гг. свидетельствовали об относительно стабильном уровне устойчивости пневмококка к 14-, 15- и 16-членным макролидам в течение указанного периода времени [83]. Она составляла не более 8,2 – 6,3%.

В этом же исследовании нечувствительность к клиндамицину варьировала от 2,9% в 1999-2003 гг. до 4,5% в 2006-2009 гг. Наши данные показывают критически возросший уровень резистентности к макролидам и клиндамицину. Уровень резистентности циркулирующих штаммов достиг 40% в 2014 г. к 14- и 15-членным макролидам (это эритромицин, азитромицин, кларитромицин) и 31% к 16-членному макролиду спирамицину, что позволяет считать нецелесообразным рутинное применение всей этой группы препаратов для лечения пневмококковых инфекций.

Множественная устойчивость пневмококка, то есть устойчивость к 3 и более классам антибиотиков, выросла с 25% в 2012 г. до 37% в 2014 г.

Наше исследование показало, что преобладающим механизмом резистентности к макролидам была модификация мишени путем метилирования, обусловленная наличием *ermB*-гена, который был выявлен у 52% эритромицин-резистентных штаммов *S. pneumoniae* в качестве одной детерминанты и в 35% – в ассоциации с *mef*-зависимым эффлюксом (табл. 6.2). 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. [207]. Таким образом, в последние годы в России значительно увеличилось число штаммов, имеющих сразу два механизма резистентности к макролидам, что вызывает обеспокоенность, т.к. этот фенотип связан с генетическими элементами клональных комплексов наиболее резистентных пневмококков [182].

Большинство (93%) изолятов пневмококка, обладавшие множественной устойчивостью к антибиотикам, относились к вакцинным серотипам (входили в состав серотипов в ПКВ7, ПКВ10 и ПКВ13). Множественная устойчивость к антибиотикам была выявлена у 28% изолятов пневмококка.

Таблица 6.2. Генетические детерминанты резистентности к макролидам у штаммов *S. pneumoniae,* устойчивых к эритромицину

Гены резистентности	**Число штаммов**	**%**
ermB+	43	52
mef+	7	9
ermB+/mef+	29	35
ermB-/mef-	3	4
Всего	***82***	***100***

Множественной устойчивостью обладали все штаммы, нечувствительные к пенициллину и амоксициллину. В нашем исследовании показано сравнительно высокая нечувствительность к амоксициллину, по сравнению с результатами, полученными в 2011-2012 гг. Нечувствительными к амоксициллину были изоляты, относившиеся к серотипам 19F и 14, при этом выявлены все они были у детей из разных детских коллективов.

Растущую резистентность к антибиотикам необходимо сопоставлять с существующей практикой эмпирической антибактериальной терапии в педиатрии. В амбулаторной практике до настоящего времени при назначении эмпирической антибиотикотерапии выбор в 45-50% случаев проводится в пользу цефалоспоринов третьего поколения. В лечении респираторных инфекций у детей доля макролидов достигает 26% и сопоставима с долей аминопенициллинов. Предпочтение отдается таким препаратам как «Сумамед» (азитромицин) и «Супракс» (цефиксим). Основной антибиотик, показанный при отитах, синуситах и пневмониях у детей, амоксициллин, на догоспитальном этапе был эмпирически выбран врачами лишь в 8% случаев.

Результаты проведенного исследования показывают 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.

Резистентность к антибиотикам тесно связана с практикой назначения и применения этих препаратов. Обычно уровень резистентности имеет прямую зависимость от уровня потребления антибиотиков [207]. Тем не менее, в России сложилась парадоксальная ситуация, когда широкая распространенность устойчивых пневмококков сочетается со сравнительно низким потреблением антибиотиков, которое сопоставимо с Нидерландами, где уровень резистентности самый низкий в Европе [207]. Вероятно, что одним из главных двигателей растущей устойчивости является порочная практика назначения антибиотиков. Так, недавнее многоцентровое исследование показало, что необоснованное назначение антибиотиков детям в амбулаторной сети составляет 40%, а правильное использование была зарегистрировано в 45% случаев [208]. В перечне назначаемых антибиотиков 22% приходилось на макролиды и 14% - на цефалоспорины. Ряд авторов причисляют оба эти класса антибиотиков к числу препаратов, стимулирующих появление резистентности [214]. Например, введение единственной дозы цефтриаксона может привести к серьезным сдвигам в носоглоточной микрофлоре, повышая долю штаммов пневмококка со сниженной чувствительностью к пенициллину [217]. В нашем исследовании более 90% пациентов с острыми респираторными бактериальными инфекциями, которым эмпирически были назначены антибиотики, получили цефалоспорины. Выбор этого класса антибиотиков в качестве препаратов первой линии при лечении пневмококковых инфекций следует признать неадекватным.

Международные рекомендации однозначно указывают на амоксициллин (в сочетании с клавуланатом или без него) как на первый выбор антибиотика при внебольничной типичной пневмонии, остром среднем отите, остром гнойном синусите в подавляющем большинстве случаев [181]. Представленные в настоящей работе результаты поддерживают данную рекомендацию, поскольку большинство исследованных изолятов пневмококка из носоглотки и ЖСУ были чувствительны к амоксициллину.

Клональная структура S. pneumonia со множественной устойчивостью к антибиотикам

Данные о генотипах пневмококка, присутствующих на территории России, ограничены, о чем можно судить по международной базе данных PMEN. Из 162 изолятов, депонированных в ней, большинство датировано 1990-ми – началом 2000-х годов [156]. В одной работе было описано 58 пенициллин-нечувствительных штаммов пневмококка, собранных в России в 2003-2007 годах, среди которых преобладали представители CC81 (ST81 с серотипом 23F), CC156 и CC236 [209]. Последние составляли большинство изолятов с множественной устойчивостью серотипа 19F (ST236, ST271 и ST651). Серотип 19A был представлен 2 штаммами с ST236 и ST608 [209].

Анализ клональной структуры пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам показал преобладание изолятов, относящихся к клональному комплексу CC320. К нему принадлежало большинство пневмококков с высокими МПК пенициллина и амоксициллина. В одной работе было описано 58 пенициллин-нечувствительных штаммов пневмококка, собранных в России в 2003-2007 годах, среди которых преобладали представители CC81 (ST81 с серотипом 23F), CC156 и CC236 [209]. Последние составляли большинство изолятов с множественной устойчивостью серотипа 19F (ST236, ST271 и ST651). Серотип 19A был представлен 2 штаммами с ST236 и ST608 [209]. В нашей выборке генотипированных пневмококков мы также наблюдали перечисленные клональные комплексы, однако они встречались гораздо реже. Десять из 32 пневмококков с множественной устойчивостью принадлежали к CC320, из них 3 изолята имели ST320, а у 7 изолятов были обнаружены новые сиквенс-варианты ST320. Отметим, что 6 из 7 этих пневмококков отличались от ST320 по последовательности локуса *dll*, причем 5 из них обладали идентичной новой последовательностью *dll* аллеля. Дивергентные последовательности по локусу *dll* ассоциируются со структурными вариантами пенициллинсвязывающего белка 2b, вызывающими резистентность к пенициллину [136]. До настоящего времени в PMEN не было депонировано ни одного изолята из России с сиквенс-типом ST320 [156], т.е. штамм пневмококка серотипа 19A с ST320, обнаруженный в ходе настоящей работы, является первым пневмококком такого рода, выявленным в нашей стране. Эти данные указывают на

то, что, несмотря на ранее наблюдавшуюся ограниченную распространенность CC320 на территории России, в настоящее время этот клональный комплекс выходит на лидирующие позиции среди пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам.

Пневмококковый клон с сиквенс-типом ST320 и капсулой серотипа 19A, являющийся родоначальником клонального комплекса CC320, получил широкое распространение в США, Канаде, Италии и Испании [136,190,210]. В Германии и Португалии увеличение доли серотипа 19A было связано с другим клональным комплексом – CC230 [211,212]. В обоих случаях наблюдавшаяся экспансия объяснялась за счет феномена замещения серотипов, имеющего отношение к внедрению в широкую практику ПКВ-7 [136,191]. В то же время в Южной Корее и Израиле об экспансии серотипа 19A с множественной устойчивостью к антибиотикам сообщалось еще до начала использования ПКВ [213,214]. В частности, в Южной Корее распространился предсуществовавший клон ST320, тогда как в Израиле пролиферировали другие клональные комплексы, в основном CC230 [214,215].

В отличие от процитированных работ полученные нами данные говорят о появлении в рамках CC320 нескольких клональных линий пневмококка с множественной устойчивостью к антибиотикам, экспрессирующих преимущественно капсулу 19F (8 из 10 представителей CC320 имели серотип 19F и только 2 имели серотип 19A). Экспансия серотипа 19A ST320 и других клональных вариантов этого серотипа до начала использования ПКВ может быть обусловлена его конкурентными преимуществами по сравнению со штаммами-предшественниками, включая лучшую способность к колонизации, повышенную вирулентность и высокую антибиотикорезистентность [136,213,214]. В этом контексте можно предположить, что в отсутствие давления ПКВ (как это до сих пор было в России) капсульный тип не играет ведущей роли в эволюции пневмококка. По мнению ряда авторов, одним из ведущих факторов, способствующих возникновению и распространению таких успешных пневмококковых клонов, как CC320, служит резистентность к антибиотикам [211,

213-215]. Наши результаты поддерживают это положение, демонстрируя накопление в пневмококковой популяции России многих резистентных клонов на фоне роста ее устойчивости к антибиотикам за последние годы.

Современная сероэпидемиология и молекулярно-генетические характеристики пневмококков в России обосновывают использование ПКВ с расширенным охватом серотипов, включая серотип 19A, даже несмотря на относительно небольшую долю этого серотипа среди циркулирующих штаммов [216,217]. Эта мера будет способствовать ограничению возможной экспансии предсуществующих клонов CC320 с множественной устойчивостью к антибиотикам через механизм переключения капсулы под давлением вакцинации.

Таким образом, наше исследование показало широкую распространенность устойчивости к антибиотикам среди штаммов пневмококка, вызывающих ОСО, которая возросла в последние годы. Это требует срочных мер по изменению сложившейся практики назначения и использования антибиотиков. Описанные изоляты пневмококка с множественной устойчивостью принадлежали к ограниченному числу клональных линий, которые не были описаны в России ранее. В связи с этим необходимость тщательного наблюдения за распространением и эволюцией резистентных пневмококков после начала широкой вакцинации ПКВ в нашей стране не вызывает сомнений.

Заключение

Проведенное исследование показало, что *S. pneumoniae* является основным патогеном в структуре носоглоточного носительства у детей младше 5 лет, а также ведущим бактериальным возбудителем острого среднего отита в этом возрасте.

Проведенный анализ серотипового разнообразия *S.pneumoniae* при носоглоточном носительстве свидетельствует о стабильности спектра циркулирующих пневмококков в детской популяции в нашей стране в последние десятилетия. 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 существующей практики эмпирической антибиотикотерапии в педиатрии. Реализация этой назревшей потребности может быть обеспечена скорейшим принятием клинических протоколов по ведению пациентов с острыми респираторными инфекциями. Учитывая, 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*.

ВЫВОДЫ

1. Частота носоглоточного носительства *S. pneumoniae* у неорганизованных здоровых детей в возрасте до 5 лет составляет 15%, у посещающих детский сад 24%, у воспитанников детского дома 26%. В спектре бактериальной колонизации носоглотки доля *S. pneumoniae* составила 31% у здоровых детей и 47% у детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями.

2. В этиологической структуре острого среднего отита у детей младшего возраста в г. Москве по данным микробиологического анализа жидкости среднего уха лидирует *S. pneumoniae* (69%), вторым по частоте обнаруживается *S. pyogenes* (19%), реже встречаются *H. influenzae* (13%) и *M. catarrhalis* (9%).

3. В серотиповом спектре *S. pneumoniae* преобладают серотипы 19F, 6A и 6B, 23F, 14, которые составляют > 75% распределения во всех когортах обследованных детей. Наиболее распространен серотип 19F (доля в серотиповом спектре превышает 20%). У детей с острыми респираторными бактериальными инфекциями, в том числе с острым средним отитом, актуальными являются также серотипы 3 и 19A.

4. В период 2011-2014 гг. зафиксирован рост доли нечувствительных к пенициллину штаммов *S. pneumoniae* с 37% до 48%, а также штаммов с множественной устойчивостью к антибиотикам с 25% до 37%. Резистентность пневмококка к клиндамицину не изменилась, оставаясь на уровне 31-32%. Актуальные штаммы S. pneumoniae сохраняют высокую чувствительность к амоксициллину.

5. Уровень резистентности циркулирующих штаммов *S. pneumoniae* к макролидным антибиотикам превышает 30%, а в группе здоровых носителей он достигает 40% к 14- и 15-членным макролидам (эритромицин, азитромицин, кларитромицин) и 31% к 16-членному макролиду спирамицину.

6. Ведущим молекулярным механизмом резистентности *S. pneumoniae* к макролидам является наличие *ermB*-гена у 52% штаммов в качестве одной

детерминанты устойчивости и у 35% – в ассоциации с *mef*-зависимым эффлюксом.

7. В клональной структуре пневмококков с множественной устойчивостью к антибиотикам преобладают изоляты клонального комплекса CC320 (30%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в настоящем исследовании данные о чувствительности к антибиотикам, серотиповом составе изолятов пневмококка у детей младшего возраста целесообразно использовать для мониторирования изменений сероэпидемиологии, сиквенс-типов и резистентности штаммов *S. pneumoniae* после начала массовой вакцинации от пневмококковой инфекции, включенной в российский календарь иммунизации в 2014 г.

Представленные данные об актуальных серотипах *S.pneumoniae* позволяют прогнозировать эффективность вакцинации от пневмококковых инфекций после начала массовой иммунизации детского населения. Результаты наших исследований показывают совпадение спектра циркулирующих серотипов на 63,5 - 81% для ПКВ7 и ПКВ10 и на 86 - 93% для ПКВ13 в различных когортах детей младшего возраста.

Представленные в работе сероэпидемиология и молекулярно-генетические характеристики *S.pneumoniae* со множественной устойчивостью к антибиотикам (преобладание штаммов, относящихся к серогруппам 19 и 6) обосновывают использование ПКВ с расширенным охватом серотипов, включая серотипы 19А, и 6А.

Сохраняющаяся высокая чувствительность *S.pneumoniae* к амоксициллину (> 90%) позволяет рекомендовать его препаратом первого выбора при острых бактериальных инфекциях пневмококковой этиологии у детей.

Устойчивость циркулирующих штаммов *S.pneumoniae* к пенициллину и триметоприму/сульфаметоксазолу, превышающая 40%, не позволяет применять эти препараты для лечения пневмококковых инфекций.

Повышение уровня резистентности исследованных штаммов пневмококка к макролидным антибиотикам до 30-40% свидетельствует о нецелесообразности рутинного использования любых макролидов для лечения пневмококковых инфекций. Данная рекомендация ограничивает применение как 14- и 15-членных, так и 16-членных макролидов, учитывая единые генетические механизмы антимикробной устойчивости у этой группы антибиотиков.

Выявление колонизация носоглотки *S. pneumoniae* или *S. pyogenes* повышает вероятность того, что именно эти бактерии являются причиной острого среднего отита у ребенка, до 60-75%.

Учитывая данные о чувствительности к антибиотикам всех выявленных бактериальных отопатогенов, для лечения острого среднего отита у детей целесообразно использовать в качестве препарата выбора амоксициллин ± клавуланат.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Баранов А.А., Намазова Л.С., Таточенко В.К. Пневмококковая инфекция и связанные с ней заболевания – серьезная проблема современного здравоохранения // Педиатрическая фармакология. 2008. №5(1).С 7-12.

2. Walker C.L., Rudan I., Liu L., Nair H., Theodoratou E. et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhea // Lancet. 2013. V. 381. P.1405-1416.

3. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization // WHO position paper. Weekly Epidemiol Rec. 2007.V. 82.P.93–104.

4. WHO Weekly Epidemiological Record. 12 January 2007, V. 82. P. 93–104. World Health Organization. http://www.who.int/wer.

5. Баранов А.А., Омельяновский В.В., Брико Н.И., Лобзин Ю.В., Намазова-Баранова Л.С., Таточенко В.К., и др. Результаты фармакоэкономического анализа применения пневмококковой конъюгированной 7-валентной вакцины для профилактики пневмококковых инфекций у детей первых лет жизни в Российской Федерации // Педиатрическая фармакология. 2009. № 6. С. 6-10

6. Сидоренко С.В., Лобзин Ю.В., Харит С.М., Королева И.С., Таточенко В.К. Пневмококковая инфекция и современные возможности ее профилактики – эпидемиологический обзор ситуации в мире и в России // Вопросы современной педиатрии. 2010. № 1. С. 62-69.

7. Reinert R.R., Paradiso P., Fritzel B. Advances in pneumococcal vaccines: the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine received market authorization in Europe // Expert Rev. Vaccines. 2010. V. 9. P. 229-236

8. Isaacman D.J., McIntosh E.D., Reinert R.R. Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among Streptococcus pneumoniae isolates in young children in Europe: impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines // Int J Infect Dis. 2010 V. 14. P. 197-209

9. Laurichesse, H., Romaszko J., Nguyen L.et al. Clinical characteristics and outcome of patients with invasive pneumococcal disease, Puy-de-Dome, France, 1994-1998 // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2001. V. 20. P. 299-308.

10.Pebody R., Hellenbrand W., D'Ancona F. et al. Pneumococcal disease surveillance in Europe // Euro. Surveill. 2006. V. 11. P 171-178.

11.Bravo L.C., Overview of the disease burden of invasive pneumococcal disease in Asia // Vaccine. 2009. V 27. P. 7282-7291.

12.Principi N., Marchisio P., Schito G., Mannelli S., Mannelli S. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children // Pediatr. Infect. Dis. J. 1999. V 18. P. 517–523.

13.Bogaert D., de Groot R., Hermans P. Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease // Lancet. Infect. Dis. 2004. V4. P. 144–54.

14.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. V 32. P. 399–404.

15.Park I., Pritchard D., Cartee R., et al. Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of Streptococcus pneumonia // J. Clin. Microbiol. 2007. V. 45. P 1225-1233.

16.Calix J., Dagan R., Pelton S. et al. Differential occurrence of Streptococcus pneumoniae serotype 11E between asymptomatic carriage and invasive pneumococcal disease isolates reflects a unique model of pathogen microevolution // Clin. Infect. Dis. 2012. V.54. P 794-799.

17.Calix J., Porambo R., Brady A. et al. // Biochemical, genetic, and serological characterization of two capsule subtypes among Streptococcus pneumoniae Serotype 20 strains: discovery of a new pneumococcal serotype // J. Biol. Chem. 2012. V.287. P.27885-27894.

18.Страчунский Л.С., Кречикова О. И., Решедько Г.К и др. Чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных от здоровых детей из организованных коллективов // Клин. Микроб. и антимикр. химиотер. 1999.№ 1. С. 31-39.

19.Klugman K., McGee L. Resurgence of the multiresistant pneumococcus in the United States: a commentary // Pediatr. Infect. Dis. J. 2007. V.26. P 473-474.

20.Garcia-Rodriguez, J.A., Fresnadillo Martinez M. J. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens // J. Antimicrob. Chemother. 2002. 50 Suppl. S.2: P.59-73.

21.Simell B., Auranen K., Käyhty H., et al. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease // Expert. Rev. Vaccines. 2012. V 11. P. 841–855.

22.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. V 30. P. 11–18.

23..Syrjanen 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. V. 24 P. 801–806.

24.Bogaert D., van Belkum A., Sluijter M., et al. Colonisation by Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus in healthy children // Lancet. 2004. V. 363. P. 1871–1872.

25.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. Immuno.l Med. Microbiol. 1999. V.25. P.19–28.

26.Principi N., Marchisio P., Schito G.C, et al. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children // Pediat. Infect. Dis. J. 1999. V. 18. P. 517–523.

27.Centers for Disease Control and Prevention. 2009. Active Bacterial Core Surveillance Report. Emerging Infections Program Network, Streptococcuspneumoniae; 2008. http://www.cdc.gov/.

28.Ferreira D.M., Jambo K.,Gordon S. Experimental human pneumococcal carriage models for vaccine research // Trends. Microbiol. 2011. V.19. P 464-470.

29.Kandasamy R., Gurung M., Thapa A. et al. Multi-Serotype Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage Prevalence in Vaccine Naïve Nepalese Children, Assessed Using Molecular Serotyping // PLoS One. 2015. V 10. DOI: 10.1371/journal.pone.0114286

30.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 // Diag. Microb. and Infect. Dis. 2012. V.74 P. 258–262

31.Dunai B., Bruno P., Carsenti-Dellamonica H. et al. Trends in nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumonia among children attending daycare centers in southern France from 1999 to 2006 // The Pediatr. Infect. Dis. J. 2008. V.11. P. 1033-1035.

32.Harboe Z.B., Slotved H-C., Konradsen H.B., et al. A Pneumococcal Carriage Study in Danish Pre-school Children before the Introduction of Pneumococcal Conjugate Vaccination // The Open Microb. J. 2012. V 6. P 40-44.

33.Turner, P., Hinds J., Turner C. et al. Improved detection of nasopharyngeal cocolonization by multiple pneumococcal serotypes by use of latex agglutination or molecular serotyping by microarray // J. Clin. Microbiol. 2011. V.49. P. 1784-1789.

34.Adetifa I., M. Antonio M., Okoromah C. et al. Pre-vaccination nasopharyngeal pneumococcal carriage in a Nigerian population: epidemiology and population biology // PLoS. 2012. V. 7. E30548.

35.Scott J.R., Millar E.V., Lipsitch M. Impact of more than a decade of pneumococcal conjugate vaccine use on carriage and invasive potential in Native American communities // J. Infect. Dis. 2012. V. 205.P. 280-288.

36.Mackenzie G.A., Carapetis J.R., Morris P.S. et al. Current issues regarding the use of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines in Australian children // J. Paediatr. Child. Health. 2005. V.41. P. 201-208.

37.Hill P., Akisanya A., Sankareh K., et al. Nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae in Gambian villagers // Clin. Infec.t Dis. 2006. V. 43.P. 673-679.

38.Whitney C.G., Farley M.M., Hadler J. et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein- polysaccharide conjugates vaccine // N. Engl. J. Med. 2003. V. 348. P. 1737–1746.

39.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. V. 29. P. 4400–4404..

40.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. V. 16. P. 816–823..

41.Sa-Leao R, Nunes S, Brito-Avo A. 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. V.15. P. 1002–1007..

42.Farrell D., Klugman K., 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. V. 26 P. 123–128.

43.Cho E.Y., Kang H.M., Lee J., Kang J.H. Changes in serotype distribution and antibiotic resistance of nasopharyngeal isolates of Streptococcus pneumoniae from children in Korea, after optional use of the 7-valent conjugate vaccine // J. Korean. Med. Sci. 2012. V.27. P. 716-722.

44.Ritchie N.D., Mitchell T.J., Evans T.J. What is different about serotype 1 pneumococci? // Future. Microbiol. 2012 V 7. P.33-46.

45.Sleeman K.L., Griffiths D., Shackley F. Capsular serotype-specific attack rates and duration of carriage of Streptococcus pneumoniae in a population of children // J. Infect. Dis. 2006 V.194. P. 682-688..

46.Nelson A.L., Roche A.M., Gould J.M. Capsule enhances pneumococcal colonization by limiting mucus-mediated clearance // Inf. Im. 2007 V 75. P. 83-90..

47.Weinberger D.M, Trzciński K., Lu Y.J et al. Pneumococcal capsular polysaccharide structure predicts serotype prevalence // PLoS Pathog. 2009 V.5. doi: 10.1371/journal.ppat.1000476

48.Mahjoub-Messai F., Doit C., Mariani-Kurkdjian P. et al. Epidemiology of acute otitis media caused by Streptococcus pneumoniae: emergence of serotype 19A // Arch. Pediatr. 2008. V. 15. P. 1713-1716.

49.Casey J.R., Adlowitz D.G., Pichichero M.E. et al. New patterns in the otopathogens causing acute otitis media six to eight years after introduction of pneumococcal conjugate vaccine // Pediatr. Infect. Dis. J. 2010. V.29. P. 304-309.

50.Shouval D.S., Greenberg D., Givon-Lavi N. et al. Site-specific disease potential of individual Streptococcus pneumoniae serotypes in pediatric invasive disease, acute otitis media and acute conjunctivitis // Pediatr. Infect. Dis. J. 2006. V.25. P. 602-607.

51.Jansen A.G., Rodenburg G.D, de Greeff S.C. et al. Invasive pneumococcal disease among adults: associations among serotypes, disease characteristics, and outcome // Clin. Infect. Dis. 2009. V. 49. P.23-29.

52.Rodriguez M.A., Gonzalez A.V., Gavín M.A. et al. Invasive pneumococcal disease: association between serotype, clinical presentation and lethality // Vaccine. 2011. V.29. P. 5740-5746.

53.Rodgers, G.L., Arguedas A., Cohen R. et al. Global serotype distribution among Streptococcus pneumoniae isolates causing otitis media in children: potential implications for pneumococcal conjugate vaccines // Vaccine. 2009. V. 27. P.3802-3810.

54.Weinberger D.M., Harboe Z.B, Sanders E.A. et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis // Clin. Infect. Dis. 2010. V. 51. P. 692-699.

55.Harboe Z.B., Thomsen R.W., Riis A. et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study // PLoS. Med. 2009. V.6. doi: 10.1371/journal.pmed.1000081.

56.Van Hoek A.J., Andrews N., Waight P.A. et al. Effect of serotype on focus and mortality of invasive pneumococcal disease: coverage of different vaccines and insight into non-vaccine serotypes // PLoS. One. 2012. V.7 doi: 10.1371/journal.pone.0039150

57.Таточенко В.К. Болезни органов дыхания у детей // Практическое руководство. М.: «ПедиатрЪ» .2012. С.480.

58.Niederman M.S. Review of treatment guidelines for community-acquired pneumonia // Am. J. Med. 200.4 V. 117. P.51-57.

59.Brandenburg J.A., Marrie T.J., Coley C.M., et al. Clinical presentation, processes and outcomes of care for patients with pneumococcal pneumonia // J. Gen. Intern. Med. 2000. V. 15. P. 638-646.

60.Cilloniz C., Ewig S., Polverino E et al. Pulmonary complications of pneumococcal community-acquired pneumonia: incidence, predictors, and outcomes // Clin. Microbiol. Infect. 2012. V. 18. P. 1134-1142.

61.Briles D.E., Hollingshead S.K, Paton J.C. et al. Immunizations with pneumococcal surface protein A and pneumolysin are protective against pneumonia in a murine model of pulmonary infection with Streptococcus pneumonia // J. Infect. Dis. 2003. V.188. P. 339-348.

62.Gentile A., Bardach A., Ciapponi A. et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in children of Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis // Int. J. Infect. Dis. 2012. V. 16. P. 5-15.

63.Resti M.,Moriondo M., Cortimiglia M., et al. Community-acquired bacteremic pneumococcal pneumonia in children: diagnosis and serotyping by real-time polymerase chain reaction using blood samples // Clin. Infect. Dis. 2010. V. 51. P. 1042-1049.

64.Burgos J., Falco V., Borrego A. et al. Impact of the emergence of non-vaccine pneumococcal serotypes on the clinical presentation and outcome of adults with invasive pneumococcal pneumonia // Clin. Microbiol. Infect. 2013. V. 19. P. 385-391.

65.Bewick T., Sheppard C., Greenwood S., et al. Serotype prevalence in adults hospitalised with pneumococcal non-invasive community-acquired pneumonia // Thorax. 2012. V. 67. P. 540-545.

66.O'Brien K.L., Wolfson L.J., Watt J.P. et al. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates // Lancet. 2009. V. 374. P. 893-902.

67.Kisakye A., Makumbi I., Nansera D.et al. Surveillance for Streptococcus pneumoniae meningitis in children aged <5 years: implications for immunization in Uganda // Clin. Infect. Dis. 2009. V. 48. S.153-161.

68.Gessner B.D., Mueller J.E, Yaro S. et al. African meningitis belt pneumococcal disease epidemiology indicates a need for an effective serotype 1 containing vaccine, including for older children and adults // BMC. Infect. Dis. 2010. V. 10: P 22.

69.Brueggemann A.B, Spratt B. G. Geographic distribution and clonal diversity of Streptococcus pneumoniae serotype 1 isolates.// J. Clin. Microbiol. 2003. V. 41. P. 4966-4970.

70.Hsu H.E, Shutt K.A, Moore M.R. et al. Effect of pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis // N. Engl. J. Med. 2009. V.360. P. 244-256.

71.Сидоренко С.В. Пневмококковые инфекции снова в центре внимания. Национальное агентство клинической фармакологии и фармации // Вопросы современной педиатрии. 2009. Т.8. № 3 С.82-87.

72.Перова А.Л., Рулева А.А., Беланов С.С., Харит С.М., Сидоренко С.В.. Клинические и бактериологические особенности острых средних отитов у детей в возрасте до 5 лет: предварительные данные // Педиатрическая фармакология. 2012. Т.9. № 5. С. 22-27.

73.Teele D.W., Klein J.O., Rosner B., et al. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study // J. Infect. Dis. 1989. V. 160. P. 83-94.

74.Vergison A., Dagan R., Arguedas A., et al. Otitis media and its consequences: beyond the earache // Lancet. Infec.t Dis. 2010. V. 10. P. 195-203.

75.Monasta L., Ronfani L., Marchetti F., et al. Burden of disease caused by otitis media: systematic review and global estimates // PLoS. ONE. 2012. V. 7. e36226.

76.Богомильский, М.Р., Чистякова В.Р. Детская оториноларингология // Руководство для врачей. 2002. № 1: С. 497-515.

77.Coker T.R., Chan L.S., Newberry S.J., et al. Diagnosis, microbial epidemiology, and antibiotic treatment of acute otitis media in children // A sys. review. JAMA. 2010. V. 304. P. 2161-2169.

78.Kouni S., Karakitsos P., Chranioti A. et al. Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays // Clin. Microbiol. Infect. 2013. V.19. P. 772-777.

79.Klugman K.P., Chien Y.W., Madhi S.A. et al. Pneumococcal pneumonia and influenza: a deadly combination // Vaccine. 2009. V.27. P. 9-C14.

80.Hansman D., Bullen M. M. A resistant pneumococcus // Lancet. 1967. V. 2. P. 264-265.

81.Appelbaum P.C., Bhamjee A., Scragg J.N. et al. Streptococcus pneumoniae resistant to penicillin and chloramphenicol // Lancet. 1977. V. 2. P. 995-997.

82.McGee L., McDougal L., Zhou J. et al. Nomenclature of major antimicrobial-resistant clones of Streptococcus pneumoniae defined by the pneumococcal molecular epidemiology network // J. Clin. Microbiol. 2001. V.39. P. 2565-2571.

83.Козлов Р. С., Сивая О.В., Кречикова О.И. и др. Динамика резистентности Streptococcus pneumoniae к антибиотикам в России за период 1999-2009 гг // Клин. Микроб. и Антимик. Химиотер. 2010. №12. С. 329-341.

84.Bergman M., Huikko S., Huovinen P. et al. Macrolide and azithromycin use are linked to increased macrolide resistance in Streptococcus pneumonia // Antimicrob. Agents Chemother. 2006. V. 50. P. 3646-3650.

85.Vanderkooi O.G., Low D.E., Green K. et al. Predicting antimicrobial resistance in invasive pneumococcal infections // Clin. Infect. Dis. 2005. V. 40. P. 1288-1297.

86.Beekmann S.E., Diekema D.J., Heilmann K.P.et al. Macrolide use identified as risk factor for macrolide-resistant Streptococcus pneumoniae in a 17-center case-control study // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2006. V. 25. P. 335-339.

87.Riedel S., Beekmann S.E., Heilmann K.P. et al. Antimicrobial use in Europe and antimicrobial resistance in Streptococcus pneumonia // Eu.r J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2007. V. 26. P. 485-490.

88.Henderson-Begg S.K., Livermore D.M, Hall L.M. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on mutation frequency in Streptococcus pneumonia // J. Antimicrob. Chemother. 2006. V.57. P. 849-854.

89.Avery O.T., Macleod C.M, McCarty M. et al. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types : Induction of Transformation by a Desoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type Iii // J. Exp. Med. 1944. V. 79. P. 137-158.

90.Croucher N.J., Harris S.R., Fraser C. et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions // Science. 2011. V. 331. P. 430-434.

91.Feil E.J., Holmes E.C., Bessen D.E.et al. Recombination within natural populations of pathogenic bacteria: short-term empirical estimates and long-term phylogenetic consequences // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V.98. P. 182-187.

92.Ehrlich G.D., Hu F.Z., Shen K., et al. Bacterial plurality as a general mechanism driving persistence in chronic infections // Clin. Orthop. Relat. Res. 2005. V. 437. P. 20-24.

93.Hiller N.L., Janto B., Hogg J.S. et al. Comparative genomic analyses of seventeen Streptococcus pneumoniae strains: insights into the pneumococcal supragenome // J. Bacteriol. 2007. V. 189. P. 8186-8195.

94.Donati C., Hiller N.L., Tettelin H. et al. Structure and dynamics of the pan-genome of Streptococcus pneumoniae and closely related species // Genome. Biol. 2010. V.11. P.107.

95.Zapun A., Contreras-Martel C., Vernet T et al. Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance // FEMS. Microbiol. Rev. 2008. V.32. P. 361-385.

96.Smith A.M., Klugman K.P. Alterations in PBP 1A essential-for high-level penicillin resistance in Streptococcus pneumonia // Antimicrob. Agents. Chemother. 1998. V.42. P. 1329-1333.

97.Weinstein M.P., Klugman K P., Jones R.N. et al. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus Streptococcus pneumoniae: coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance // Clin. Infect. Dis. 2009. V.48. P. 596-1600.

98.Mera R.M., Miller L.A, Amrine-Madsen H. et al. Impact of new Clinical Laboratory Standards Institute Streptococcus pneumoniae penicillin susceptibility testing breakpoints on reported resistance changes over time // Microb. Drug. Resis.t 2011. V.17. P. 47-52.

99.Song J.H., Jung S.I, Ko K.S. et al. High prevalence of antimicrobial resistance among clinical Streptococcus pneumoniae isolates in Asia (an ANSORP study) // Antimicrob. Agents. Chemother. 2004. V.48. P. 2101-2107.

100. Borg M.A., Tiemersma E., Scicluna E. et al. Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive Streptococcus pneumoniae isolates reported by laboratories in the southern and eastern Mediterranean region // Clin. Microbiol. Infect. 2009. V. 15. P. 232-237.

101. Castaneda E., Agudelo C., Regueira M. et al. Laboratory-based surveillance of Streptococcus pneumoniae invasive disease in children in 10 Latin American countries: a SIREVA II project, 2000-2005 // Pediatr. Infect. Dis. J. 2009. V. 28. P. 265-270.

102. Mudhune S., Wamae M. Report on invasive disease and meningitis due to Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumonia from the Network for Surveillance of Pneumococcal Disease in the East African Region // Clin. Infect. Dis. 2009. V.48. P. 147-152.

103. Oteo J., Lázaro E., de Abajo F. et al. Trends in antimicrobial resistance in 1,968 invasive Streptococcus pneumoniae strains isolated in Spanish hospitals (2001 to 2003): decreasing penicillin resistance in children's isolates // J. Clin. Microbiol. 2004. V.42. P. 5571-5577.

104. Nilsson P., Laurell M. A 10-year follow-up study of penicillin-non-susceptible S. pneumoniae during an intervention programme in Malmo, Sweden // Scand. J. Infect. Dis. 2006. V.38. P. 838-844.

105. Aguiar S.I., Serrano I., Pinto F.R. et al. Changes in Streptococcus pneumoniae serotypes causing invasive disease with non-universal vaccination coverage of the seven-valent conjugate vaccine // Clin. Microbiol. Infect. 2008. V.14. P. 835-843.

106. Ardanuy C., Rolo D., Fenoll A. et al. Emergence of a multidrug-resistant clone (ST320) among invasive serotype 19A pneumococci in Spain // J. Antimicrob. Chemother. 2009. V.64. P. 507-510.

107. Vestrheim D.F., Hoiby E.A, Bergsaker M.R. et al. Indirect effect of conjugate pneumococcal vaccination in a 2+1 dose schedule // Vaccine. 2010. V.28. P. 2214-2221.

108. Lepoutre A., Varon E., Georges S. et al. Impact of infant pneumococcal vaccination on invasive pneumococcal diseases in France, 2001-2006 // Euro. Surveill. 2008. V.13. P.1-6.

109. Tyrrell G.J., Lovgren M., Chui N. et al. Serotypes and antimicrobial susceptibilities of invasive Streptococcus pneumoniae pre- and post-seven valent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Alberta, Canada, 2000-2006 // Vaccine. 2009. V 27. P 3553-3560.

110. Jenkins S.G., Farrell D.J. Increase in pneumococcus macrolide resistance, United States. // Emerg. Infect. Dis. 2009. V. 15. P 1260-1264.

111. Wolter N., von Gottberg A., du Plessis M. et al. Molecular basis and clonal nature of increasing pneumococcal macrolide resistance in South Africa, 2000-2005 // Int. J. Antimicrob. Agents. 2008. V. 32. P. 62-67.

112. Reinert R., van der Linden M., Seegmüller I. et al. Molecular epidemiology of penicillin-non-susceptible Streptococcus pneumoniae isolates from children with invasive pneumococcal disease in Germany // Clin. Microbiol. Infect. 2007. V 13. P. 363-368.

113. Imöhl M., Reinert R.R., Mutscher C., van der Linden M. Macrolide susceptibility and serotype specific macrolide resistance of invasive isolates of Streptococcus pneumoniae in Germany from 1992 to 2008 // BMC. Microbiol. 2010. V.10. P. 299.

114. Fouda S.I., Kadry A.A, Shibl A.M., et al. Beta-lactam and macrolide resistance and serotype distribution among Streptococcus pneumoniae isolates from Saudi Arabia // J. Chemother. 2004. V. 16. P. 517-523.

115. Nielsen K.L., Hammerum A.M., Lambertsen L.M. et al. Characterization and transfer studies of macrolide resistance genes in Streptococcus pneumoniae from Denmark // Scand. J. Infect. Dis. 2010. V. 42. P. 586-593.

116. Song J.H., Chang H.H., Suh J.Y. et al. Macrolide resistance and genotypic characterization of Streptococcus pneumoniae in Asian countries: a study of the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) // J. Antimicrob. Chemother. 2004. V. 53. P. 457-463.

117. Pletz M.W., McGee L., Jorgensen J. et al. Levofloxacin-resistant invasive Streptococcus pneumoniae in the United States: evidence for clonal spread and the impact of conjugate pneumococcal vaccine // Antimicrob. Agents. Chemother. 2004. V. 48. P. 3491-3497.

118. Adam H.J., Hoban D.J., Gin A.S., Zhanel G.G. Association between fluoroquinolone usage and a dramatic rise in ciprofloxacin-resistant Streptococcus pneumoniae in Canada, 1997-2006 // Int. J. Antimicrob. Agents. 2009. V.34. P. 82-85.

119. Davies T.A., Yee Y. C., Bush K., et al. Effects of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on U.S. levofloxacin-resistant Streptococcus pneumoniae //Microb. Drug. Resist. 2008. V. 14. P. 187-196.

120. Ip M., Chau S.S., Chi F. et al. Longitudinally tracking fluoroquinolone resistance and its determinants in penicillin-susceptible and -nonsusceptible Streptococcus pneumoniae isolates in Hong Kong, 2000 to 2005 // Antimicrob Agents Chemother. 2007. V. 51. P. 2192-2194.

121. Von Gottberg A., Klugman K.P., Cohen C. et al. Emergence of levofloxacin-non-susceptible Streptococcus pneumoniae and treatment for multidrug-resistant tuberculosis in children in South Africa: a cohort observational surveillance study // Lancet. 2008. V. 371. P. 1108-1113.

122. Wolter N., du Plessis M., von Gottberg A. et al. Molecular characterization of emerging non-levofloxacin-susceptible pneumococci isolated from children in South Africa // J. Clin. Microbiol. 2009. V.47. P. 1319-1324.

123. Lauderdale T.L., Wagener M.M., Lin H.M. et al. Serotype and antimicrobial resistance patterns of Streptococcus pneumoniae isolated from Taiwanese children: comparison of nasopharyngeal and clinical isolates // Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 2006. V.56. P. 421-426.

124. Lee S., Lee K., Kang Y., Bae S. Prevalence of serotype and multidrug-resistance of Streptococcus pneumoniae respiratory tract isolates in 265 adults and 36 children in Korea, 2002-2005 // Microb. Drug. Resist. 2010. V.16. P. 135-142.

125. Robbins J.B., Austrian R., Lee C.J. et al. Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups // J. Infect. Dis. 1983. V.148. P. 1136-1159.

126. Roche P.W., Krause V., Cook H. et al. Invasive pneumococcal disease in Australia, 2006 // Commun. Dis. Intell. Q. Rep. 2008. V.32. P. 18-30.

127. Pomat W.S., Lehmann D., Sanders R.C. et al. Immunoglobulin G antibody responses to polyvalent pneumococcal vaccine in children in the highlands of Papua New Guinea. Infect. Immun. 1994. V. 62. P. 1848-1853.

128. lloch A., Licciardi P.V., Russell F.M., Mulholland E.K., Tang M.L. Infants aged 12 months can mount adequate serotype-specific IgG responses to pneumococcal polysaccharide vaccine // J. Allergy. Clin. Immunol. 2010. V.126. P. 395-397.

129. Lazarus R., Clutterbuck E., Yu L.M. et al. A randomized study comparing combined pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccination schedules in adults // Clin. Infect. Dis. 2011. V.52. P. 736-742.

130. Hicks L.A, Harrison L.H., Flannery B. et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998-2004 // J. Infect. Dis. 2007. V.196. P. 1346-1354.

131. Stephens D.S., Zughaier S.M., Whitney C.G. et al. Incidence of macrolide resistance in Streptococcus pneumoniae after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine: population-based assessment // Lancet. 2005. V. 365. P. 855-863.

132. Kaplan S.L., Mason E.O. Jr., Wald E.R. et al. Decrease of invasive pneumococcal infections in children among 8 children's hospitals in the United States after the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine // Pediatrics. 2004. V.113. P. 443-449.

133. Talbot T.R., Poehling K.A, Hartert T.V. et al. Reduction in high rates of antibiotic-nonsusceptible invasive pneumococcal disease in tennessee after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine // Clin. Infect. Dis. 2004. V.39. P. 641-648.

134. Kyaw M.H., Lynfield R., Schaffner W. et al. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant Streptococcus pneumonia // N. Engl. J. Med. 2006. V. 354. P. 1455-1463.

135. Beall B., McEllistrem M.C., Gertz R.E. et al. Pre- and postvaccination clonal compositions of invasive pneumococcal serotypes for isolates collected in the United States in 1999, 2001, and 2002 // J. Clin. Microbiol. 2006. V. 44. P. 999-1017.

136. Moore M.R., Gertz R.E., Woodbury R.L. et al. Population snapshot of emergent Streptococcus pneumoniae serotype 19A in the United States, 2005 // J. Infect. Dis. 2008. V. 197. P. 1016-1027.

137. Huang S. S., Platt R., Rifas-Shiman S.L. et al. Post-PCV7 changes in colonizing pneumococcal serotypes in 16 Massachusetts communities, 2001 and 2004 // Pediatrics. 2005. V. 116. P. 408-413.

138. Miller E., Andrews N., Waight P. et al. Herd immunity and serotype replacement 4 years after seven-valent pneumococcal conjugate vaccination in England and Wales: an observational cohort study // Lancet. Infect. Dis. 2011. V. 11. P. 760-768.

139. Yildirim I., Stevenson A., Hsu K.K. et al. Evolving picture of invasive pneumococcal disease in massachusetts children: a comparison of disease in 2007-2009 with earlier periods // Pediatr. Infect. Dis. J. 2012. V. 31. P. 1016-1021.

140. Hausdorff W., Bryant J., Paradiso P. et al. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I // Clin. Infect. Dis. 2000. V. 30. P. 100-121.

141. Paradiso P. R. Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children // Clin. Infect. Dis. 2011. V.52. P. 1241-1247.

142. Wroe P. C., Lee G. M., Finkelstein J.A. et al. Pneumococcal carriage and antibiotic resistance in young children before 13-valent conjugate vaccine // Pediatr. Infect. Dis. J. 2012. V. 31. P. 249-254.

143. Zuccotti G., Mameli C., Daprai L. et al. Serotype distribution and antimicrobial susceptibilities of nasopharyngeal isolates of Streptococcus pneumoniae

from healthy children in the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine era // Vaccine. 2014. V.32. P. 527-534.

144. Feavers I., Knezevic I., Powell M. et al. Challenges in the evaluation and licensing of new pneumococcal vaccines, 7-8 July 2008, Ottawa, Canada // Vaccine. 2009. V. 27. P. 3681-3688.

145. Cooper D., X. Y., Sidhu M. et al. The 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) elicits cross-functional opsonophagocytic killing responses in humans to Streptococcus pneumoniae serotypes 6C and 7A // Vaccine. 2011. V. 29. P. 7207-7211.

146. Chevallier B., Vesikari T., Brzostek J. et al. Safety and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) when coadministered with routine childhood vaccines // Pediatr. Infect. Dis. J. 2009. V. 28. P. 109-118.

147. Nunes, M.C., Madhi S.A. Review on the immunogenicity and safety of PCV-13 in infants and toddlers // Expert. Rev. Vaccines. 2011. V.10. P. 951-980.

148. Liua Y., Wanga H., Chen M. Serotype distribution and antimicrobial resistance patterns of Streptococcus pneumoniae isolated from children in China younger than 5 years // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2008. V. 61. P. 256–263.

149. Jourdain S., Smeesters P.R., Denis O. et al. Differences in nasopharyngeal bacterial carriage in preschool children from different socio-economic origins // Clin. Microbiol. Infect. 2010.. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03410.

150. Grevers G., Wiedemann S., Bohn J.C. et al. Identification and characterization of the bacterial etiology of clinically problematic acute otitis media after tympanocentesis or spontaneous otorrhea in German children // BMC. Infect. Dis. 2012. V. 20. P. 312.

151. 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. Т. 5. № 3. С. 5-13.

152. 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. V 34. P. 255-260.

153. Методические указания. (МУК) 4.2. 1890 - 04 М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. С.91

154. Leclercq R., Cantón R., Brown D.F., et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing // Clin. Microbiol. Infect. 2013. V. 19. P 141-160.

155. Enright M.C., Spratt B.G. A multilocus sequence typing scheme for Streptococcus pneumoniae: identification of clones associated with serious invasive disease // Microbiology. 1998. V 144. P 3049-3060.

156. Multi Locus Sequence Typing: Streptococcus pneumoniae. http://pubmlst.org/spneumoniae.

157. Akobeng A.K. Understanding diagnostic tests 2: likelihood ratios, pre- and post-test probabilities and their use in clinical practice // Acta. Paediatrica. 2006. V. 96. P. 487-491.

158. Fischer J.E., Bachmann L.M., Jaeschke R. A readers guide to the interpretation of diagnostic test properties: clinical example of sepsis // Intensive Care Med. 2003. V. 29. P. 1043-1051.

159. Sekhar S., Chakraborti A., Kumar R.. Haemophilus influenzae colonization and its risk factors in children aged <2 years in northern India // Epidemiol. Infect. 2009. V. 137. P.156–160.

160. 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. V. 5. P. 19–29.

161. Watt J.P., Wolfson L.J., O'Brien K.L., et al.; Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by Haemophilus influenzae

type b in children younger than 5 years: global estimates // Lancet. 2009. V.374. P. 903–911.

162. 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. С. 6-12.

163. Shaikh N., Leonard E., Martin J.M. Prevalence of Streptococcal pharyngitis and Streptococcal carriage in children: A meta-analysis // Pediatrics. 2010. V 126. P. 557−564.

164. 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 // Клин. микроб. антимикроб. химиотер. 2011. №2. С. 177-187.

165. Катосова Л.К., Сидорина Т.М., Батуро А.П., Сотникова Г.Д. Серотипы S. pneumoniae у детей, больных хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1990. №2. С. 32-37.

166. 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. Т.2. №6, С. 6-10.

167. 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. С . 103-107.

168. Copelovitch L., Kaplan B. Streptococcus pneumoniae-associated hemolytic uremic syndrome: classification and the emergence of serotype 19A // Pediatrics. 2010. V. 125. P. 174–182.

169. Bradley J.S., Byington C.L., Shah S.S. et al. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age — clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America // Clin. Infect. Dis. 2011. V. 53. P. 617–630.

170. Harris M., Clark J., Coote N. et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011 // Thorax. 2011. V 66 P. 1–23.

171. Lahti E., Peltola V., Waris M. et al. Induced sputum in the diagnosis of childhood community-acquired pneumonia // Thorax.2009. V. 64. P. 252–257.

172. Shah S.S., Dugan M.H., Bell L.M. et al. Blood cultures in the emergency department evaluation of childhood pneumonia // Pediatr. Infect. Dis. J. 2011. V. 30: P. 475–479.

173. Marchese A., Esposito S., Coppo E. et al. Detection of Streptococcus pneumoniae and identification of pneumococcal serotypes by real-time polymerase chain reaction using blood samples from Italian children 5 years of age with community acquired pneumonia // Microb. Drug. Resist. 2011. V 17. P. 419–424.

174. Recommendations for management of common childhood conditions: evidence for technical update of pocket book recommendations: newborn conditions, dysentery, pneumonia, oxygen use and delivery, common causes of fever, severe acute malnutrition and supportive care. World Health Organization. 2012. URL: http://www.who.int.

175. Strachunskiy L.S., Belousov Yu. B, Kozlov S. N. Prakticheskoye rukovodstvo po antiinfektsionnoy khimioterapii (Practical Guidance on Anti-Infectious Chemotherapy) // Смоленск. «MAKMAKh». 2007. С. 464

176. Pocket book of hospital care for children: guidelines for the management of common childhood illnesses – 2nd ed. WHO, 2013.

177. Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of Streptococcus pneumoniae. Clin. Microbiol. Infect. 2009. V 15. P. 7-11.

178. Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infections caused by antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae. // Clin. Microbiol. Infect. 2009. V 15. P. 16-20.

179. Song J.H., Dagan R., Klugman K., Fritzel B. The relationship between pneumococcal serotypes and antibiotic resistance // Vaccine. 2012. V. 30. P. 2728-2737.

180. Vergison A. Microbiology of otitis media: a moving target // Vaccine. 2008. V 26. P. 5-10.

181. Lieberthal A.S., Carroll A.E., Joffe M.D., et al. The diagnosis and management of acute otitis media (clinical practice guideline) // Pediatrics. 2013. V 131. P. 964.

182. 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. V 16. P. 402-410.

183. Hackel M., Lascols C., Bouchillon S. et al. Serotype prevalence and antibiotic resistance in Streptococcus pneumoniae clinical isolates among global populations // Vaccine. 2013. V 31. P. 4881-4887.

184. Geng Q., Zhang T., Ding Y. et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae isolated from children hospitalized with respiratory infections in Suzhou, China // PLoS. One. 2014. V 9. e93752.

185. Маянский А.Н. Стрептококки: микробиология и патология // Вопросы диагностики в педиатрии. 2010. №1. С. 9-19.

186. Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Катосова Л.К. Серотиповое разнообразие и резистентность пневмококков // Вестник РАМН. 2014. №7-8. С. 38-45.

187. Wyres K.L., Lambertsen L.M., Croucher N.J., et al. Pneumococcal capsular switching: a historical perspective // J. Infect. Dis. 2013. V. 207. P 439-449.

188. Richter S.S., Heilmann K.P., Dohrn C.L. et al. Pneumococcal serotypes before and after introduction of conjugate Vaccines, United States, 1999-2011 // Emerg. Infect. Dis. 2013. 19. P. 1074-1083.

189. Azzari C., Martinón-Torres F., Schmitt H.J., Dagan R. Evolving role of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in clinical practice // Pediatr. Infect. Dis. J. 2014. V. 33. P. 858-864.

190. Gene A., del Amo E., Inigo M., et al. Pneumococcal serotypes causing acute otitis media among children in Barcelona (1992-2011): emergence of the multiresistant clone ST320 of serotype 19A // Pediatr. Infect. Dis. J. 2013. V. 32. P. 128-133.

191. Weinberger D.M., Malley R., Lipsitch M.. Serotype replacement in disease after pneumococcal vaccination // Lancet. 2011. V 378. P 1962-1973.

192. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 марта 2014 г. N 125н. г. Москва "Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям".

193. Segal N., Givon-Lavi N., Leibovitz E., et al. Acute otitis media caused by Streptococcus pyogenes in children // Clin. Infect. Dis. 2005. V. 41 P.35-41.

194. Leibovitz E., Serebro M., Givon-Lavi N., et al. Epidemiologic and microbiologic characteristics of culture-positive spontaneous otorrhea in children with acute otitis media // Pediatr. Infect. Dis. J. 2009. 28. P. 381-384.

195. Parra M.M., Aguilar G.M., Echaniz-Aviles G., et al. Bacterial etiology and serotypes of acute otitis media in Mexican children // Vaccine. 2011. 29. P. 5544-5549.

196. Falup-Pecurariu O., Leibovitz E., Mercas A., et al. Pneumococcal acute otitis media in infants and children in central Romania, 2009-2011: microbiological characteristics and potential coverage by pneumococcal conjugate vaccines // Int. J. Infect. Dis. 2013. V. 17. P. 702-706.

197. Катосова Л.К., Очкасов А.В., Богомильский М.Р. Этиология и рациональная терапия тяжелых форм острых средних гнойных отитов у детей // Антибиотики и химиотерапия. 2006. № 2. С. 23-29.

198. Somech I., Dagan R., Givon-Lavi N., Porat N., Raiz S., Leiberman A., Puterman M., Peled N., Greenberg D., Leibovitz E.. Distribution, dynamics and antibiotic resistance patterns of Streptococcus pneumoniae serotypes causing acute otitis media in children in southern Israel during the 10 year-period before the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine // Vaccine. 2011. V. 29. P. 4202-4209.

199. McEllistrem M.C., Adams J.M., Patel K., et al. Acute otitis media due to penicillin-nonsusceptible Streptococcus pneumoniae before and after the introduction of the pneumococcal conjugate vaccine // Clin. Infect. Dis.. 2005. V. 40 P. 1738-1744.

200. Alonso M., Marimon J.M., Ercibengoa M., et al. Dynamics of Streptococcus pneumoniae serotypes causing acute otitis media isolated from children with spontaneous middle-ear drainage over a 12-year period (1999-2010) in a region of northern Spain // PLoS One. 2013.V 8. doi: 10.1371/journal.pone.0054333.

201. Setchanova L.P., Kostyanev T., Alexandrova A.B., Mitov I.G., Nashev D., Kantardjiev T. Microbiological characterization of Streptococcus pneumoniae and non-typeable Haemophilus influenzae isolates as primary causes of acute otitis media in Bulgarian children before the introduction of conjugate vaccines. // Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 2013 V 12. doi: 10.1186/1476-0711-12-6.

202. Hotomi M., Billal D.S., Kamide Y., Kanesada K., Uno Y., Kudo F., Ito M., Kakehata S., Sugita R., Ogami M, Yamanaka N. Advanced Treatment for Otitis Media Study Group (ATOMS). Serotype distribution and penicillin resistance of Streptococcus pneumoniae isolates from middle ear fluids of pediatric patients with acute otitis media in Japan. // J. Clin. Microbiol. 2008. V. 46. P. 3808-3810.

203. 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. Т. 2. №6. С.6-10.

204. 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. – Vol. 19. – P. 196-200.

205. 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. V. 12. P. 853-866.

206. Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Lahham A. et al. Mechanisms of macrolide resistance among Streptococcus pneumoniae isolates from Russia // Antimicrob Agents Chemother. 2008. V.52. P. 2260-2262.

207. Goossens H., Ferech M., Vander S.; ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study // Lancet. 2005. V. 365. P. 579-587.

208. Rachina S., Kozlov R., Jarkova L., Belkova Y., Tatochenko, V., and PATRIOT study group. Prescribing of systemic antimicrobials for respiratory infections in children in primary care in Russia [Abstract P0370]. In: 24th ECCMID 2014, Barcelona, Spain.

209. Сидоренко С.В., Савинова Т.А., Ильина Е.Н., Сырочкина М.А. Популяционная структура пневмококков со сниженной чувствительностью к пенициллину и перспективы антипневмококковой вакцинации для сдерживания распространения антибактериальной резистентности // Антибиотики и химиотерапия. 2011. Т. 56. № 5–6. С. 11–18.

210. Pillai D.R., Shahinas D., Buzina A. et al. Genome-wide dissection of globally emergent multi-drug resistant serotype 19A Streptococcus pneumonia // BMC. Genomics. 2009. V. 10. P. 642.

211. Van der Linden M., Winkel N., Küntzel .S. et al.. Epidemiology of Streptococcus pneumoniae serogroup 6 isolates from IPD in children and adults in Germany // PLoS One. 2013. V. 8: e60848.

212. Aguiar S.I., Pinto F.R., Nunes S., et al. Denmark14-230 clone as an increasing cause of pneumococcal infection in Portugal within a background of diverse serotype 19A lineages // J. Clin. Microbiol. 2010. V. 48. P. 101-108.

213. Hsieh Y.C., Lin T.L., Chang K.Y. et al. Expansion and evolution of Streptococcus pneumoniae serotype 19A ST320 clone as compared to its ancestral clone, Taiwan19F-14 (ST236) // J. Infect. Dis. 2013. V. 208. P. 203-210.

214. Dagan R., Givon-Lavi N., Leibovitz E. et al. Introduction and proliferation of multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae serotype 19A clones that cause acute otitis media in an unvaccinated population // J. Infect. Dis. 2009. V. 199. P. 776-785.

215. Moore M.R. Rethinking replacement and resistance // J. Infect. Dis. 2009. V. 199: P. 771-773.

216. 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. V. 20. P. 58-62.

217. Tatochenko V, Sidorenko S, Namazova-Baranova L. et al. Streptococcus pneumoniae serotype distribution in children in the Russian Federation before the introduction of pneumococcal conjugate vaccines into the National Immunization Program // Expert. Rev. Vaccines. 2014. V. 13: P. 257-264.