

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредители:

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Главный редактор:
Синопальников А.И.

Адрес редакции:

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А

Эл. почта: info@cmac-journal.ru

Адрес для корреспонденции:

214019, г. Смоленск, а/я 5.

Тел./факс: +7(4812)45-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск,

ул. Кирова 46А. www.iacsmac.ru

Адрес типографии:

214020, Россия, г. Смоленск,

ул. Смольянинова, д. 1

Электронная версия журнала:

https://cmac-journal.ru

Подписка на сайте издателя:

https://service.iacsmac.ru

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предпринятия связи Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 19.05.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Шеленков А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Платонов А.Е., Козлов Р.С., Акимкин В.Г.

396 Определение серотипов *Streptococcus pneumoniae*, вызывающих инвазивные и неинвазивные формы инфекций, с использованием высокопроизводительного секвенирования

Бубман Л.И., Тополянская С.В., Рачина С.А., Гладких М.А., Усова Т.В., Карпов В.В., Молочников А.Ю., Нечаев А.И., Хан С.О., Эмомадов А.М., Захаров Н.С., Харченко Е.И., Лыткина К.А., Марченко И.П., Буриев И.М., Мелконян Г.Г.

401 Микробный пейзаж при исследовании ран у пациентов с боевыми травмами конечностей

Васильева И.А., Панова А.Е., Грачева А.Н., Байракова А.Л., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Самойлова А.Г.

411 Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, выделенных у пациентов ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России в «доковидный» период и во время пандемии COVID-19

Максимова Е.А., Кузьменков А.Ю., Лямин А.В., Козлов А.В., Кондратьева Е.И., Кондратенко О.В.

417 Возможности использования онлайн-регистратора AMRcf у пациентов с муковисцидозом

Арсеньева А.А., Лямин А.В., Мигачёва Н.Б., Орлов Е.В., Алексеев Д.В.

426 Микробиологические аспекты взаимосвязи кожной микробиоты и псориаза

Антимикробные препараты

Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С.

439 Разработка критериев интерпретации и оценки качества результатов определения чувствительности представителей порядка Enterobacterales и *Pseudomonas aeruginosa* к цефепиму-сульбактаму

Гамаюнов Д.Ю., Калягин А.Н., Орлова Г.М., Балабина Н.М., Синькова Г.М., Синьков А.В.

452 Применение фторхинолонов в лечении внебольничной пневмонии и их кардиотоксические эффекты

Антибиотикорезистентность

Васильева И.А., Панова А.Е., Тинькова В.В., Грачева А.Н., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Байракова А.Л., Самойлова А.Г.

462 Антибиотикорезистентность *Mycobacterium avium* в период пандемии COVID-19

Опыт работы

Косилова И.С., Домотенко Л.В., Храмов М.В.

470 Организация производства отечественного бульона Мюллера-Хинтон

Комягина Т.М., Тряпочкина А.С., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Горинова Ю.В., Симонова О.И.

480 Популяционная структура и молекулярно-генетическая характеристика штаммов

Streptococcus pneumoniae, выделенных от детей с хронической бронхолегочной патологией

Козлов Р.С., Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Петровская Т.А., Куркова А.А.

487 Микробиологическая активность бовгиалуронидазы азоксимера в отношении микробных биопленок

Новикова И.Е., Садеева З.З., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Лазарева А.В.

496 Характеристика парных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, полученных от детей

Белова И.В., Широкова И.Ю., Точилина А.Г., Ковалишена О.В., Белянина Н.А., Тулупов А.А., Молодцова С.Б., Селиверстов А.Н., Кропотов В.С., Соловьева И.В.

505 Исследование антимикробного действия супернатанта *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на госпитальные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*

Видманова М.В., Жестков А.В., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Шеститко Е.Ю., Решетникова В.П.

514 Микробиологическое исследование при коклюше и влияние состава питательной среды на белковое профилирование *Bordetella* spp.

Немченко У.М., Ситникова К.О., Григорова Е.В., Сухорева М.В., Белькова Н.Л., Чемезова Н.Н., Савилов Е.Д.

522 Формирование биопленок клиническими изолятами условно-патогенных микроорганизмов под влиянием дезинфицирующих средств

Описание клинических случаев

Хостелиди С.Н.

529 Опыт применения изавуконазола для лечения мукормикоза: описание клинического случая и анализ данных регистра

Популяционная структура и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей с хронической бронхолегочной патологией

Комягина Т.М., Тряпочкина А.С., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Горинова Ю.В., Симонова О.И.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:
Татьяна Михайловна Комягина
Эл. почта: soledad92@mail.ru

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, эпидемиология, серотипы, антимикробная резистентность, муковисцидоз, врожденные пороки развития бронхолегочной системы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.
Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Изучить популяционную и молекулярно-генетическую структуру штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от детей с муковисцидозом (МВ) и врожденными пороками развития бронхов и легких (ВГР) в период с 2011 по 2021 г., их серотиповое разнообразие в довакцинный и поствакцинный периоды, а также определить характер чувствительности к антимикробным препаратам (АМП).

Материалы и методы. 140 изолятов были получены из респираторных образцов пациентов с ВГР или МВ в 2011–2021 гг. Для идентифицированных штаммов определялись серотипы, чувствительность к АМП, гены резистентности к β-лактамам и макролидам, а также сиквенс-типы.

Результаты. Наблюдался рост невакцинных серотипов в основном за счет серотипа 11А. Устойчивость пневмококков к АМП оказалась выше у вакцинных серотипов в сравнении с серотипами, не входящими в вакцину. Отмечался рост числа чувствительных при увеличенной экспозиции пенициллина штаммов *S. pneumoniae* среди вакцинных серотипов. Все *ermB/mef*-содержащие пневмококки относились к фенотипу cMLS_B и демонстрировали высокий уровень устойчивости к макролидам в сочетании с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ).

Выводы. Необходим постоянный мониторинг популяционной структуры штаммов *S. pneumoniae* у детей с хронической бронхолегочной патологией. Выявление МЛУ-серотипов с новыми сиквенс-типами свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения характера чувствительности *S. pneumoniae* к АМП, а также генетических механизмов их резистентности.

Original Article

Population structure and genetic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with chronic respiratory diseases

Komyagina T.M., Ttryapochkina A.S., Alyabieva N.M., Lazareva A.V., Gorinova Yu.V., Simonova O.I.

National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

Contacts:
Tatiana M. Komyagina
E-mail: soledad92@mail.ru

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, epidemiology, serotypes, antimicrobial resistance, cystic fibrosis, congenital malformations of the bronchi and lungs.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.
External funding source: no external funding received.

Objective. To study the population and genetic structure of *S. pneumoniae* isolated from children with cystic fibrosis (CF) and congenital malformations of the bronchi and lungs (CM) over the period 2011 to 2021, their serotype diversity in pre-vaccination and post-vaccination periods and susceptibility to antimicrobials.

Materials and methods. A total of 140 *S. pneumoniae* isolates (during 2011-2021) from respiratory samples of patients with CM or CF were included in the study. For all isolates serotypes, antimicrobial susceptibility, resistance genes to β-lactams and macrolides, and sequence types were determined.

Results. We observed a general increase in non-vaccine serotypes mainly due to serotype 11A. Antimicrobial resistance was higher in vaccine serotypes compared to non-vaccine serotypes. There was an increase in the number of *S. pneumoniae* isolates with reduced susceptibility to penicillin among vaccine serotypes. All *ermB/mef*-containing isolated belonged to the cMLS_B phenotype and demonstrated high levels of macrolide resistance and multidrug resistance (MDR).

Conclusions. Continuous monitoring of the population structure of *S. pneumoniae* in children with chronic bronchopulmonary diseases is necessary. The detection of MDR serotypes with new sequence types indicates the great importance of continuing surveillance of antimicrobial resistance of *S. pneumoniae*.

Введение

Streptococcus pneumoniae – возбудитель тяжелых инфекций, многие из которых могут иметь серьезные эпидемиологические последствия, так как структура пневмококковой популяции и характер лекарственной устойчивости постоянно меняются во всем мире [1].

Первичным местом колонизации *S. pneumoniae* является эпителий носоглотки. Несмотря на то, что распространенность бессимптомного носительства пневмококка у здорового населения оценивается в 20–50% [2], колонизация носоглотки *S. pneumoniae* считается осно-

вой передачи данного возбудителя среди людей и предпосылкой как инвазивных, так и неинвазивных пневмококковых заболеваний [3].

Согласно данным литературы, частота встречаемости *S. pneumoniae* у детей с муковисцидозом (МВ) составляет от 5% до 20%, причем более чем в 80% случаев пневмококк выделяется вместе с другими бактериальными респираторными патогенами, что не затрудняет понимание вклада *S. pneumoniae* в заболевание легких у детей, больных МВ. Распространенность пневмококковой инфекции у детей с первичной цилиарной дискинезией составляет 20–30%, но о значимости ее влияния на функцию легких не сообщалось [4].

Носительство *S. pneumoniae* у младенцев и детей раннего возраста с МВ, а также с врожденными пороками развития бронхов и легких (ВГР) может иметь значение вследствие биопленочного типа роста. Образованию биопленок способствует анаэробная или микроаэрофильная среда, характерная для дыхательных путей при МВ и ВГР, что в итоге приводит к сохранению носительства в течение длительного периода времени и возрастанию степени их устойчивости к антибиотикам [5].

Принимая во внимание тот факт, что бактериальные инфекции являются основной причиной заболеваемости и смертности у пациентов с МВ и могут быть ассоциированы с заболеваемостью и смертностью у пациентов с ВГР, понимание структуры пневмококковой популяции и ее молекулярно-генетического разнообразия при данных патологиях имеет важное значение для определения тактики лечения и наблюдения таких детей [6].

Цель исследования – изучить популяционную структуру изолятов *S. pneumoniae*, выделенных от детей с муковисцидозом и врожденными пороками развития бронхолегочной системы в период с 2011 по 2021 г., их серотиповое разнообразие в довакцинный и поствакцинный периоды, чувствительность к антимикробным препаратам и молекулярно-генетическую характеристику.

Материалы и методы

Изоляты *S. pneumoniae* были получены из респираторных образцов (аспираты, промывные воды бронхов, мокрота) пациентов с ВГР или МВ, наблюдавшихся в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей Минздрава России» с 2011 по 2021 г. Демографические характеристики и клинические данные были получены путем изучения медицинских карт пациентов.

Идентификацию пневмококков проводили по морфологическим признакам колоний, α-гемолизу на кровяном агаре, а также с помощью оптохинового теста (Bio-Rad, Франция) и метода латекс-агглютинации (экспресс-тест Remel Europe Ltd, UK). Исследование чувствительности штаммов *S. pneumoniae* к оксациллину, эритромицину (Эри), клиндамицину (Кли), тетрациклину (Тет), хлорамфениколу (Хло), сульфаметоксазолу-триметоприму (ТМП) проводилось с помощью диско-диффузионного метода (Bio-Rad, Франция) и с помощью

Е-тестов (bioMérieux, Франция), – для пенициллина (Пен), эритромицина и клиндамицина. Наличие индубильной устойчивости (iMLS_B) к клиндамицину у Эри-резистентных/Кли-чувствительных пневмококков регистрировали в случае уплощения зоны подавления роста (D-феномен) вокруг диска с Кли, расположенного рядом с Эри-дисксом. М-фенотип, связанный с активным выводом антибиотиков за счет эффлюкса, наблюдался у Эри-резистентных/Кли-чувствительных пневмококков, не обладавших D-феноменом. Конститутивный же тип экспрессии генов резистентности (cMLS_B) отмечался у штаммов, которые проявляли резистентность одновременно и к эритромицину, и к клиндамицину. Результаты чувствительности *S. pneumoniae* к антимикробным препаратам определяли согласно критериям EUCAST (v 13.1) [7]. Штаммы хранили в питательной среде с добавлением 17% стерильного глицерина при -80°C.

Чистую культуру *S. pneumoniae* серотипировали с использованием наборов специфических пуловых, групповых и факторных сывороток и/или латексных диагностикомов (Statens Serum Institut, Дания), а также с помощью молекулярного типирования [8]. Вакцинными серотипами являлись те, которые были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину (ПКВ13), а невакцинными – те, которые не были в нее включены (не-ПКВ13).

Анализ генов пенициллинсвязывающих белков (*pbp1a*, *pbp2b* и *pbp2x*), генов резистентности к макролидам *mef* (*macrolid efflux*) и *ermB* (*erythromycin ribosomal methylase B*) проводился с помощью мультиплексной ПЦР [9].

Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) штаммов *S. pneumoniae* с множественной устойчивостью к антибиотикам (т.е. устойчивостью к трем и более исследованным группам антибиотиков) выполняли в соответствии со стандартным протоколом [10, 11]. Анализ последовательностей генов «домашнего хозяйства» с определением сиквенс-типов проводили с использованием базы данных MLST [11].

Статистический анализ проводили с помощью программного пакета «Statistics v.25» («IBM SPSS»). Для сравнительного анализа данных использовали критерий Фишера, значение $p < 0,05$ считалось показателем статистической значимости.

Все участники исследования подписывали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (протокол №3 от 28.03.2024).

Результаты

В течение периода исследования было идентифицировано 140 изолятов *S. pneumoniae* с МВ (38,6%; 54/140) и ВГР (61,4%; 86/140). Пациентами являлись дети возрастом от 0 до 17 лет 11 месяцев, которые наблюдались в «НМИЦ здоровья детей» по направлениям из 8 федеральных округов России и Республики Казахстан.

Всего в ходе типирования было выявлено 29 различных серотипов *S. pneumoniae*, два изолята (1,4%) были отнесены к нетипируемым. Преобладающее большинство образцов было получено в Европейской части России, а именно в Московской области (26/140; 18,6%) и в Чеченской республике (26/140; 18,6%) (Таблица 1).

В Европейской части России серотиповой состав на 61,3% (76/124) представлен 19F, 3, 14, 23F, 6B и 11A серотипами, из них 21% (26/124) составляют 19F образцы. Остальные 38,7% состоят из 22 различных серотипов (включая нетипируемый), каждый из которых по количеству не превышает 4% (5/124).

Азиатская часть России, в отличие от Европейской, характеризуется наличием таких серовариантов, как 6D и 19A, однако преобладающим серотипом также остается 19F (5/14; 35,7%).

Распространенность серотипов, входящих в ПКВ13, составляла 66%. Причем среди ПКВ13-изолятов преобладали серотипы 19F (35,8%; 34/95), 3 (16,8%; 16/95), 14 (12,6%; 12/95), 23F (11,6%; 11/95) и 6A/B (13,7%; 13/95). Доля остальных серотипов (1,4,9V,18C,19A) в сумме не превышала 10%. Среди штаммов, не входящих в ПКВ13, преобладал серотип 11A (18,4%; 9/49) (Рисунок 1).

В поствакцинный период доля серотипов, входящих в ПКВ13, снизилась на 9%. В основном это наблюдалось у детей с ВПР. Таким образом, на фоне начавшейся в 2014 г. массовой вакцинации от пневмококковой инфекции мы наблюдаем снижение распространенности вакцинных серотипов и рост частоты ранее редко встречающихся серотипов (Таблица 2).

Общая чувствительность к пенициллину составила 97,8% (136/139). Среди этих штаммов доля чувствительных при увеличенной экспозиции составила более 30%, при этом обращает на себя внимание, что подавляющее большинство из них относились к вакцинным серотипам ($p < 0,05$). Доля резистентных к пенициллину штаммов не превышала 3%.

При оценке динамики распределения минимальной подавляющей концентрации (МПК) пенициллина у образцов с 2011 по 2021 г. мы наблюдаем рост резистентности *S. pneumoniae* с течением времени (Рисунок 2). Появление большого числа резистентных штаммов в поствакцинный период говорит о снижении чувствительности пневмококков к данному препарату за последнее десятилетие.

В период до внедрения ПКВ13 МПК₉₀ пенициллина составляла 0,75 мг/л, а после внедрения ПКВ13 – 1,5 мг/л (Таблица 3).

Резистентные и чувствительные при увеличенной экспозиции к пенициллину штаммы *S. pneumoniae* ($n = 47$) были исследованы на наличие мутаций в генах пенициллиносвязывающих белков (PBP_s).

Нами было показано, что мутации в генах PBP_s в различных сочетаниях имели все исследуемые образцы (Таблица 4). У большинства чувствительных при увеличенной экспозиции пенициллина штаммов выявлены мутации во всех трех генах PBP_s (34/44; 77,3%). Семь

Таблица 1. Серотиповое разнообразие изолятов *S. pneumoniae* и их распространение на территории России среди пациентов ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» с хронической бронхолегочной патологией

Округ	Диагноз	n (%)	Серотипы
ЦФО 37,7%	МВ	16 (11,6)	6A, 6B, 14, 19F, 23F 10A, 20, 28F
	ВПР	36 (26,1)	3, 4, 6A, 6B, 9V, 14, 19F, 23F 6C, 8, 9N, 11A, 16F, 22F, 28A, 31, 34, 35C, 35F, нетипируемый
СЗФО 1,45%	МВ	1 (0,7)	3
	ВПР	1 (0,7)	14
ЮФО 2,9%	МВ	3 (2,2)	3
	ВПР	1 (0,7)	14
СКФО 37,7%	МВ	19 (13,8)	3, 6A, 6B, 9V, 14, 19F, 23F 10A, 11A, 16F
	ВПР	33 (23,9)	1, 3, 6B, 9V, 18C, 19F, 23F 8, 11A, 15B/C, 16F, 20, 23A, 23B, 31, 34
ПФО 10,1%	МВ	7 (5,1)	9V, 19F 6C, 11A, 22F
	ВПР	7 (5,1)	4, 19F 11A, 22F, 23A, 34
УрФО 3,6%	МВ	2 (1,4)	11A, 15B/C
	ВПР	3 (2,2)	19F 6D
СФО 1,45%	МВ	1 (0,7)	10A
	ВПР	1 (0,7)	6A
ДФО 5,1%	МВ	3 (2,2)	19F нетипируемый
	ВПР	4 (2,9)	3, 19A, 19F

ЦФО – Центральный федеральный округ; СЗФО – Северо-Западный федеральный округ; ЮФО – Южный федеральный округ; СКФО – Северо-Кавказский федеральный округ; ПФО – Приволжский федеральный округ; УрФО – Уральский федеральный округ; СФО – Сибирский федеральный округ; ДФО – Дальневосточный федеральный округ; МВ – муковисцидоз; ВПР – врожденные пороки развития бронхов и легких.

штаммов имели мутации в двух генах в следующих сочетаниях: *pbp2b* и *pbp2x* ($n=3$), *pbp1a* и *pbp2x* ($n = 3$), *pbp1a* и *pbp2b* ($n = 1$). У трех штаммов были выявлены мутации только в одном гене: *pbp2x* ($n = 1$) или *pbp2b* ($n = 2$). Штаммы *S. pneumoniae*, резистентные к пенициллину (5,7%), имели мутации в двух генах *pbp1a* и *pbp2b* ($n = 1$) или во всех трех генах PBP_s ($n = 2$).

Значение МПК₅₀ эритромицина вошло в чувствительный диапазон. МПК₉₀ эритромицина не менялась, в отличие от МПК₉₀ пенициллина, как в период до внедрения ПКВ13, так и после (Таблица 3). Резистентные к эритромицину штаммы в 87,5% случаев имели *ermB* ген

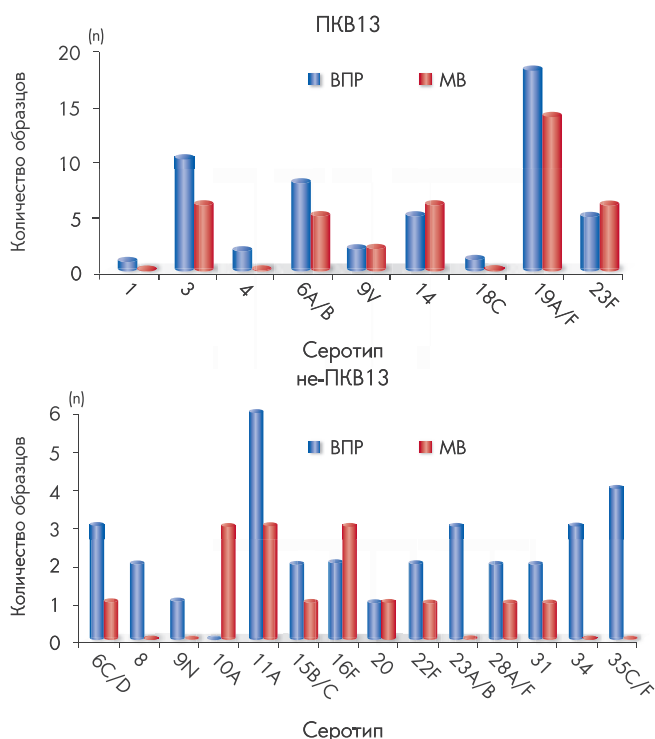


Рисунок 1. Распространенность ПКВ13 и не-ПКВ13 штаммов *S. pneumoniae* среди детей с хронической бронхолегочной патологией
ПКВ13 – серотипы, которые были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину; не-ПКВ13 – серотипы, которые не были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину.

Таблица 2. Количество серотипов, входящих и не входящих в ПКВ13, за периоды до введения вакцины и после в соответствии с диагнозом

Серотип	Диагноз	2011–2014		2015–2021	
		n (%)			
ПКВ13	МВ	19 (28,8)	46 (69,7)	20 (27)	45 (60,8)
	ВПР	27 (40,9)	25 (33,8)		
не-ПКВ13	МВ	7 (10,6)	8 (10,8)		29 (39,2)
	ВПР	13 (19,7)	21 (28,4)		
Всего:		66 (100)	74 (100)		

ПКВ13 – серотипы, которые были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину; не-ПКВ13 – серотипы, которые не были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину.

изолированно, либо *ermB* в сочетании с *tef*. Только ген *tef* имели не более 13% штаммов (Рисунок 3).

Наиболее распространенным фенотипом устойчивости к макролидам был конститутивный тип экспрессии генов резистентности *sMLS_B* (70,2%; 33/47). Доля *iMLS_B* и М-фенотипа составляла 19,2% и 10,6% соответственно. Среди изолятов с фенотипом *sMLS_B* 57,6% (19/33) содержали одновременно гены *ermB* и *tef*, а 39,4% (13/33) – только ген *ermB*. Всего один изолят с фенотипом *sMLS_B* имел только ген *tef*. Примечательно,

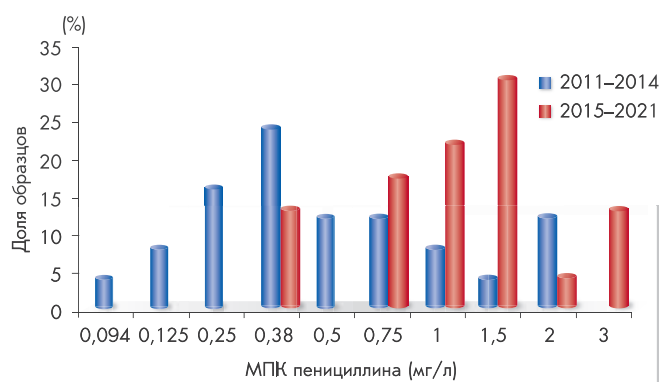


Рисунок 2. Процентное соотношение резистентных и чувствительных при увеличенной экспозиции пеницилина штаммов *S. pneumoniae* в зависимости от МПК в период до внедрения ПКВ13 и после

Таблица 3. Чувствительность штаммов *S. pneumoniae* в период до внедрения ПКВ13 и после

Антибиотик	Год	n (%)			МПК, мг/л	
		Ч	У	Р	50%	90%
Пен	2011–2014	40 (61,5)	25 (38,5)	0	≤ 0,06	0,75
	2015–2021	51 (68,9)	20 (27)	3 (4,1)	≤ 0,06	1,5
Эри	2011–2014	45 (69,2)	0	20 (30,8)	≤ 0,25	256
	2015–2021	46 (62,2)	0	28 (37,8)	≤ 0,25	256

Ч – чувствительность, У – чувствительность при увеличенной экспозиции, Р – резистентность, Пен – пенициллин, Эри – эритромицин.

Таблица 4. Мутации в генах *PBP*s среди резистентных и чувствительных при увеличенной экспозиции пеницилина штаммов *S. pneumoniae*

PBP	n		Всего
	0,094–2 мг/л (У)	> 2 мг/л (Р)	
1a+2x-2b+	1	0	1
1a+2x+2b-	2	0	2
1a+2x-2b-	3	0	3
1a-2x-2b+	3	0	3
1a-2x+2b-	1	1	2
<i>pbp-</i>	34	2	36
Всего:	44	3	47

У – чувствительность при увеличенной экспозиции, Р – резистентность.

«+» в генах, кодирующих *PBP*s, означает отсутствие мутаций в гене; «-» обозначает гены, несущие мутацию, приводящую к изменению структуры белка.

что все штаммы с фенотипом *iMLS_B* содержали только ген *ermB*, а штаммы с М-фенотипом – только ген *tef*.

Клиндамицин оказался более активен в сравнении с эритромицином. При этом 8,4% (9/107) клиндамицинорезистентных штаммов *S. pneumoniae* обладали *iMLS_B*-фенотипом, что говорит об устойчивости в присутствии эритромицина.

Хлорамфеникол показал высокую активность в отношении исследуемых штаммов пневмококка, чего нельзя сказать про ТМП, чувствительность к которому была на

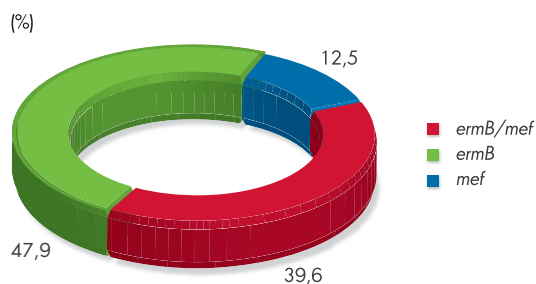


Рисунок 3. Соотношение генов *ermB*, *mef* среди эритромицинорезистентных штаммов *S. pneumoniae*

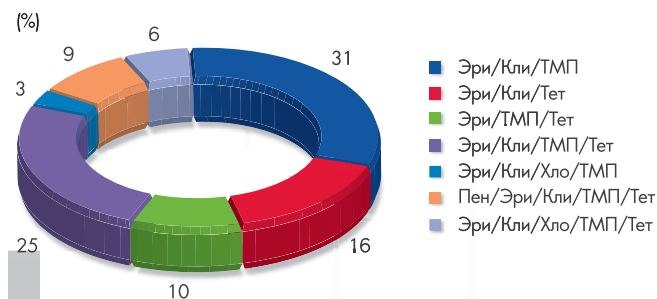


Рисунок 4. Фенотипы резистентности штаммов *S. pneumoniae* с МЛУ среди детей с хронической бронхолегочной патологией
Эри – эритромицин, Кли – клиндамицин, Тет – тетрациклин, Хло – хлорамфеникол, ТМП – сульфаметоксазол-триметоприм, Пен – пенициллин.

42% ниже хлорамфеникола. ТМП оказался менее активен в отношении штаммов *S. pneumoniae*, не входящих в ПКВ13, чем остальные антибиотики.

В целом резистентность изолятов к каждому из антимикробных препаратов не превышала 45%.

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) наблюдалась у 32 изолятов, что составляет 23% от общего числа образцов. Наиболее распространенными МЛУ-фенотипами являлись Эри/Кли/ТМП и Эри/Кли/ТМП/Тет (Рисунок 4). Среди штаммов с МЛУ к пяти антибиотикам встречается один серотип (35С), не входящий в ПКВ13 (Таблица 5).

Среди МЛУ-фенотипов преобладали вакцинные штаммы с серотипами 19F (65,6%) и 14 (12,5%). Остальные приходились на серотипы 6В (6,3%), 6А (3,1%), 19А (3,1%). К штаммам с серотипами, не входящими в ПКВ13, относились 35С (3,1%), 11А (3,1%), 8 (3,1%). Изменение серотипового состава МЛУ-штаммов *S. pneumoniae* у детей с хронической бронхолегочной патологией с течением времени показано в Таблице 5.

Анализ генов «домашнего хозяйства» МЛУ-штаммов *S. pneumoniae* (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, and *ddl*) выявил 16 различных сиквенс-типов (ST), четыре из которых (ST18104, ST18105, ST18295, ST18297) были новыми, согласно базе данных pubMLST. Большинство новых сиквенс-типов (3/4) характеризовались наличием

Таблица 5. Серотиповое многообразие вакцинных и невакцинных МЛУ-штаммов *S. pneumoniae* с 2012 по 2021 г.

Серотип, (n)	Год							Всего	
	2012	2013	2016	2017	2018	2019	2021		
ПКВ13	6А (1)							1	
	6В (1)			6В (1)				2	
	14 (3)							14 (1)	4
	19А (1)							1	
	19F (3)	19F (4)	19F (7)	19F (4)	19F (3)			21	
Всего	6	5	9	4	4	1	29		
не-ПКВ13	8 (1)							1	
	35С (1)					11А (1)		1	
								1	
Всего	1	1	1	1	1	1	3		

ПКВ13 – серотипы, которые были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину; не-ПКВ13 – серотипы, которые не были включены в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину.

известных аллелей в комбинациях, не встречавшихся ранее, а один сиквенс-тип (ST18104) имел новую последовательность аллеля *ddl*, которая была занесена в базу данных pubMLST с присвоением номера 1171.

Несколько сиквенс-типов включали более чем один серотип (Рисунок 5). ST236 включал в себя серотипы 14 и 19F, ST320 – 19А, 19F и ST9659 – 19F и 8. Обращает на себя внимание, что штаммы с серотипом 19F показывали наибольшее разнообразие сиквенс-типов, включая все 4 новых сиквенс-типа (Рисунок 5). Также стоит отметить, что все новые сиквенс-типы относились к МЛУ-штаммам с фенотипом *sMLS_B*, имеющих при этом оба гена резистентности к эритромицину (*ermB/mef*). Большая часть из них (75%) встречалась преимущественно у больших МВ.

Обсуждение

Пневмококковая инфекция и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *S. pneumoniae* у детей с МВ и ВПР недостаточно освещены российскими и зарубежными авторами. Большинство работ описывает особенности пневмококков в рамках носоглоточного носительства [12, 13]. Несмотря на то, что у детей с хронической бронхолегочной патологией роль пневмококка остается не до конца ясна, выявление МЛУ-штаммов *S. pneumoniae* с невакцинными серотипами у таких детей может говорить о сложностях в назначении антибактериальной терапии и возможном продлении периода реабилитации.

В ходе исследования нами было показано отсутствие различий по распространенности вакцинных и невакцинных штаммов между группами детей с МВ и ВПР. При этом мы наблюдали общий рост невакцинных серотипов, что согласуется с ранее полученными в нашем центре результатами у детей с носоглоточным носительством [12]. В нашем исследовании рост не-ПКВ13 штаммов среди детей с хронической бронхоле-

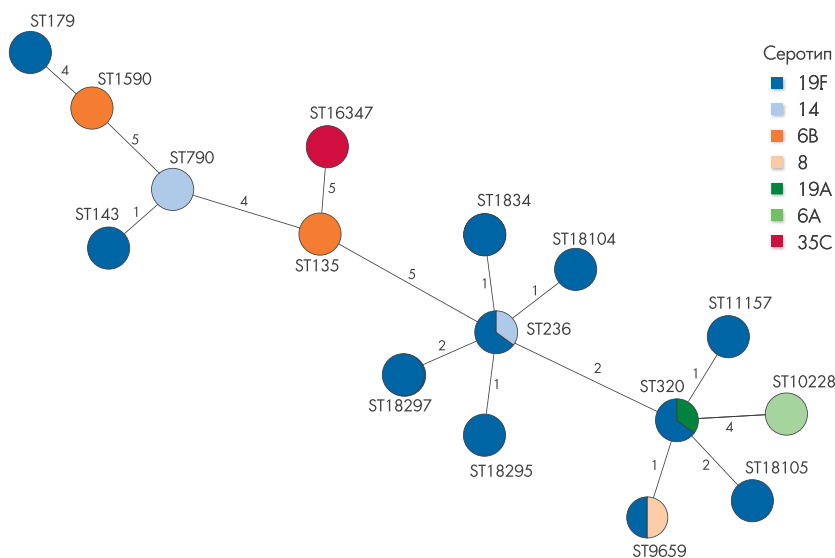


Рисунок 5. Популяционное разнообразие МЛУ-штаммов *S. pneumoniae* у детей с хронической бронхолегочной патологией
Каждый кружок обозначает тип последовательности (ST), а цвет кружка – серотип. Нумерация между соединенными узлами указывает на различия в локусах между профилями MLST.

гочной патологией наблюдался в основном за счет серотипа 11А, у детей с носоглоточным носительством же преобладающим невакцинным штаммом являлся серотип 15 В/С [12].

Устойчивость штаммов пневмококка к эритромицину, клиндамицину и тетрациклину оказалась выше у ПКВ13-серотипов в сравнении с серотипами, не входящими в вакцину. Наибольшую активность среди представленных антибиотиков проявили пенициллин и хлорамфеникол.

После внедрения ПКВ13 в национальный календарь профилактических прививок и широкую клиническую практику отмечался рост числа чувствительных при увеличенной экспозиции пенициллина штаммов *S. pneumoniae* среди вакцинных серотипов. Это, вероятно, связано с увеличивающимся числом мутаций в генах резистентности к пенициллину, в частности, в генах *PBP*s. Полученные нами данные согласуются с результатами многоцентрового эпидемиологического исследования ПеГАС [13], поэтому проблема снижения чувствительности пневмококков к пенициллину в России вследствие изменений механизмов устойчивости к β-лактамам антибиотикам за исследованное десятилетие показывает необходимость дальнейшего мониторинга характера чувствительности *S. pneumoniae* к пенициллину и другим АМП в целом.

Все резистентные к эритромицину штаммы *S. pneumoniae* имели гены *ermB* и/или *mef*. Среди пневмококков, содержащих гены *ermB* и *mef* по отдельности, только у *ermB*-положительных штаммов встречалась множественная лекарственная устойчивость. Согласно полученным нами данным, фенотип устойчивости к макролидам *cMLS_B* встречался наиболее часто. Похожая ситуация наблюдается в граничащем с Россией северо-

ро-восточном Китае [14]. Все *ermB/mef*-содержащие пневмококки относились к фенотипу *cMLS_B* и демонстрировали высокий уровень устойчивости к макролидам в сочетании с множественной лекарственной устойчивостью к нескольким классам антибиотиков, что может давать преимущество таким штаммам *S. pneumoniae* в эпоху повсеместного использования АМП.

Также нами было показано, что серотип 19F представляет наибольшую эпидемиологическую значимость. Штаммы *S. pneumoniae* с серотипом 19F являются самыми распространенными на территории России и составляют 22,1% всех исследованных образцов. Схожие данные были получены в исследовании Егоровой Е. и соавт. [15], где серотип 19F также входит в группу преобладающих вакцинных серотипов. Несмотря на то, что серотип 19F входит в ПКВ13, большая часть 19F-образцов обладают множественной лекарственной устойчивостью к трем (13/31), четырем (5/31) или пяти (3/31) антибиотикам и относятся к 11 различным сиквенс-типам, включая все 4 впервые выявленных сиквенс-типа.

Заключение

Таким образом, штаммы *S. pneumoniae* динамически изменяются в связи с действием различных факторов, что требует постоянного мониторинга. Выявление новых невакцинных серотипов у детей с хронической бронхолегочной патологией, а также вакцинных серотипов с новыми сиквенс-типами, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, свидетельствует о необходимости продолжения изучения популяционной структуры *S. pneumoniae*, характера чувствительности к АМП и генетических механизмов их резистентности.

Литература

1. Savinova T., Brzhozovskaya E., Shagin D., Mayanskiy N., Alyabieva N., Lazareva A. Multiple-drug resistant nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* isolated in Russia: serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of the emergent serotype 13/ST2754 lineage. *Microbial Drug Resistance*. 2022; 28(1):39-47. DOI: 10.1089/mdr.2021.0074
2. Maeda Y., Elborn J.S., Parkins M.D., Reihill J., Goldsmith C.E., Coulter W.A., et al. Population structure and characterization of viridans group streptococci (VGS) including *Streptococcus pneumoniae* isolated from adult patients with cystic fibrosis (CF). *J Cyst Fibros*. 2011;10(2):133-139. DOI: 10.1016/j.jcf.2010.11.003
3. Simell B., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K.L. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Expert Rev Vaccines*. 2012;11(7):841-855. DOI: 10.1586/erv.12.53
4. Wijers C.D., Chmiel J.F., Gaston B.M. Bacterial infections in patients with primary ciliary dyskinesia: comparison with cystic fibrosis. *Chron Respir Dis*. 2017;14(4):392-406. DOI: 10.1177/1479972317694621
5. del Campo R., Morosini M.I., de la Pedrosa E.G., Fenoll A., Muñoz-Almagro C., Máz L., et al. Spanish Pneumococcal Infection Study Network. Population structure, antimicrobial resistance, and mutation frequencies of *Streptococcus pneumoniae* isolates from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*. 2005;43(5):2207-2214. DOI: 10.1128/JCM.43.5.2207-2214.2005
6. Ciofu O., Hansen C.R., Høiby N. Respiratory bacterial infections in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19(3):251-258. DOI: 10.1097/MCP.0b013e32835f1afc
7. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2023. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.1. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed June 29, 2023.
8. Alyab'eva N.M., Blinova T.A., Ponomarenko O.A., Lazareva A.V., Katosova L.K., Mayanskiy N.A. Molecular typing of *Streptococcus pneumoniae* using multiplex polymerase chain reaction assay with due regard to the spread of serotypes in the Russian Federation. *Current Pediatrics*. 2013;12(6):30-34. Russian. (Алябьева Н.М., Блинова Т.А., Пономаренко О.А., Лазарева А.В., Катосова Л.К., Маянский Н.А. Молекулярное типирование *Streptococcus pneumoniae* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с учетом распространенности серотипов в Российской Федерации. Вопросы современной педиатрии. 2013;12(6):30-34.) DOI: 10.15690/vsp.v12i6.871
9. Nagai K., Shibasaki Y., Hasegawa K., Davies T.A., Jacobs M.R., Ubukata K., et al. Evaluation of PCR primers to screen for *Streptococcus pneumoniae* isolates and beta-lactam resistance, and to detect common macrolide resistance determinants. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48(6):915-918. DOI: 10.1093/jac/48.6.915
10. Enright M.C., Spratt B.G. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology (Reading)*. 1998;144(11):3049-3060. DOI: 10.1099/00221287-144-11-3049
11. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018;24(3):124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
12. Mayanskiy N., Kulichenko T., Alyabieva N., Brzhozovskaya E., Ponomarenko O., Savinova T., et al. Changing serotype distribution and resistance patterns among pediatric nasopharyngeal pneumococci collected in Moscow, 2010-2017. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;94(4):385-390. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.02.010
13. Ivanchik N.V., Chagaryan A.N., Sukhorukova M.V., Kozlov R.S., Dekhnich A.V., Krechikova O.I., et al. Antimicrobial resistance of clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Russia: the results of multicenter epidemiological study «PEHASus 2014-2017». *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2019; 21(3):230-237. Russian. (Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В., Козлов Р.С., Дехнич А.В., Кречикова О.И. и соавт. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПеГАС 2014-2017». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(3):230-237.) DOI: 10.36488/смас.2019.3.230-237
14. Zhou X., Liu J., Zhang Z., Cui B., Wang Y., Zhang Y., et al. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* macrolide resistance and its mechanism in Northeast China over a 20-year period. *Microbiol Spectr*. 2022;10(5):e0054622. DOI: 10.1128/spectrum.00546-22
15. Egorova E., Kumar N., Gladstone R.A., Urban Y., Voropaeva E., Chaplin A.V., et al. Key features of pneumococcal isolates recovered in Central and Northwestern Russia in 2011-2018 determined through whole-genome sequencing. *Microb Genom*. 2022;8(9):mgen000851. DOI: 10.1099/mgen.0.000851