

Н.А. Маянский, Н.М. Алябьева, О.А. Пономаренко, Т.В. Куличенко, И.В. Артемова, А.В. Лазарева, Е.А. Бржозовская, О.В. Шамина, Л.К. Катосова

Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

Динамика распространенности серотипов и антибиотикорезистентности носоглоточных пневмококков, выделенных у детей в 2010–2016 гг.: результаты ретроспективного когортного исследования

Контактная информация:

Маянский Николай Андреевич, доктор медицинских наук, заведующий лабораторным отделом НИИ педиатрии НМИЦ здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, тел.: +7 (499) 134-02-18, e-mail: mayansky@nczd.ru

Статья поступила: 26.09.2017 г., принята к печати: 30.10.2017 г.

413

Пневмококки остаются распространенными возбудителями острых инфекций у детей. **Цель исследования:** проанализировать динамику структуры серотипов носоглоточных пневмококков и их устойчивость к антибиотикам у детей. **Методы.** Проведено ретроспективное когортное исследование. Изучали носоглоточные изоляты пневмококков, выделенные в 2010–2016 гг. у детей, получавших стационарную и амбулаторную помощь в Национальном медицинском исследовательском центре здоровья детей (Москва). Серотипирование проводили с помощью специфических антисывороток и/или с применением мультиплексной полимеразной цепной реакции. Чувствительность к оксацилину (ОХА), эритромицину (ERY), клиндамицину (CLI), триметоприму/сульфаметоксазолу, хлорамфениколу и тетрациклину определяли диско-диффузионным методом. В 2013–2016 гг. для пенициллина (PEN), амоксициллина (AMX), ERY и CLI исследовали минимальную подавляющую концентрацию. **Результаты.** Всего исследовано 1111 изолятов, выделенных у детей в возрасте 4 (2,4; 6,5) лет. Идентифицировано 48 серотипов пневмококков, на шесть из них (3, 6A, 6B, 14, 19F и 23F) приходилось 63,2% всех изолятов. С 2010 по 2016 г. структура серотипов не изменилась. При этом 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина охватывала 74% серотипов у детей в возрасте до 5 лет. Высокой резистентностью отличались пневмококки пяти наиболее распространенных серотипов (6A, 6B, 14, 19F и 23F) и серотипа 19A. Доля ОХА-резистентных пневмококков в течение семилетнего периода возросла с 21,3 до 35,9%, ERY-резистентных — с 24,5 до 36,9% (81,3% имели MLSB-фенотип, т.е. устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В). В 2013–2016 гг. доля PEN- и AMX-резистентных пневмококков составила 34,6 и 3,5% соответственно. **Заключение.** За последние 7 лет структура серотипов носоглоточных пневмококков у детей не изменилась. Сохраняется высокая чувствительность пневмококков к AMX, отмечается увеличение их устойчивости к макролидам. Последнее ограничивает широкое применение макролидов и линкозамидов для эмпирической терапии пневмококковых инфекций у детей.

Ключевые слова: дети, пневмококк, серотип, изоляты, антибиотики, резистентность, динамика.

(Для цитирования: Маянский Н. А., Алябьева Н. М., Пономаренко О. А., Куличенко Т. В., Артемова И. В., Лазарева А. В., Бржозовская Е. А., Шамина О. В., Катосова Л. К. Динамика распространенности серотипов и антибиотикорезистентности носоглоточных пневмококков, выделенных у детей в 2010–2016 гг.: результаты ретроспективного когортного исследования. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16 (5): 413–423. doi: 10.15690/vsp.v16i5.1806)

ОБОСНОВАНИЕ

Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*) остается одним из самых распространенных возбудителей инфекционных болезней, особенно у детей и пожилых лиц [1]. Способствует этому существующая практика широкого и зачастую необоснованного применения антибиотиков, в результате чего происходит адаптация бактериальной флоры к изменениям условий существования [1–3]. Широкое применение антибиотиков является одним из факторов роста резистентности пневмококков и появления бактерий со множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) [4].

Профилактика пневмококковых инфекций базируется на вакцинации пневмококковыми конъюгированными вакцинами (ПКВ), содержащими от 7 до 13 серовариантов капсульных полисахаридов наиболее вирулентных и резистентных пневмококков. Вакцинация значительно снизила циркуляцию вакцинных серотипов и резко сократила заболеваемость связанными с ними инвазивными инфекциями [5–7]. Вместе с тем в пост-ПКВ периоде наблюдался рост распространенности отдельных невакцинных серотипов пневмококка, которые начали замещать освободившуюся «нишу» [6]. Очевидно, что бактериальная популяция динамично изменяется,

а это указывает на необходимость постоянного мониторинга ее серотипового состава [8].

Изучение сероэпидемиологии и резистентности пневмококков в России получило новый импульс накануне включения вакцинации ПКВ в Национальный календарь прививок Российской Федерации в 2014 г. [9]. Были опубликованы результаты исследований, в т.ч. многоцентровых, которые позволили сформировать представления о резистентности и серотиповом пейзаже пневмококков в пре-ПКВ периоде и спрогнозировать эффективность вакцинации [10–12]. Предыдущие исследования, проведенные в различных регионах России, позволили выявить преобладание обычных, так называемых педиатрических серотипов (19F, 6A и 6B, 23F, 14, 3), которые составили > 75% распределения в разных когортах обследованных детей [10, 13, 14]. Поскольку носительство 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 конкретном регионе. Не менее важен мониторинг антибиотикорезистентности пневмококка. В последнее десятилетие в различных исследованиях по мониторингу чувствительности к антибиотикам в нашей стране продемонстрирован значительный рост устойчивости пневмококков к наиболее часто назначаемым антибиотикам [15–17].

Целью нашего исследования было проанализировать динамику структуры серотипов и устойчивости к антибиотикам носоглоточных изолятов пневмококков у детей.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено ретроспективное когортное исследование.

Критерии соответствия

Критерий включения:

- дети в возрасте до 17 лет включительно, получавшие стационарную или амбулаторную помощь, у которых были взяты носоглоточные мазки.

Источники данных

Для реализации цели исследования использовали медицинскую документацию пациентов и данные лаборатории микробиологии, аккумулированные в лабораторном отделе Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей (НМИЦ здоровья детей, Москва). В анализ включены результаты микробиологических исследований (данные о носоглоточных изолятах* пневмококков), выполненных в период с 2010 по 2016 г. Для того чтобы в выборке каждого периода времени было > 100 изолятов, результаты 2010 и 2011, а также 2014 и 2015 гг. были объединены.

Лабораторные исследования

Типирование пневмококков

Взятие биоматериала (носоглоточные мазки) для определения микрофлоры осуществляли рутинно при амбулаторном обращении или при поступлении в стационар, в процессе педиатрического и оториноларингологического осмотра или при диспансеризации детей старше 1 мес жизни. Образцы биоматериала из носоглотки собирали при помощи набора eSWAB Collection Kit (Copan Diagnostics, Италия) и доставляли в лабораторию микробиологии НМИЦ здоровья детей. Пневмококки выделяли из посева биоматериала носоглотки на колумбийском кровяном агаре с добавлением 3% лошадиной сыворотки. Идентификацию пневмококков проводили на основании морфологических и культуральных свойств [18], а также

Nikolay A. Mayanskiy, Natalia M. Alyabieva, Olga A. Ponomarenko, Tatiana V. Kulichenko, Inga V. Artemova, Anna V. Lazareva, Ekaterina A. Brozhozovskaya, Olga V. Shamina, Lyubovj K. Katosova

National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Serotypes and Antimicrobial Susceptibility of Nasopharyngeal Pneumococci Isolated from Children in 2010–2016: A Retrospective Cohort Study

Background. *Pneumococci* (*Streptococcus pneumoniae*) represent major pathogens that cause acute infections in children. **Objective.** Our aim was to analyze dynamics of the distribution of nasopharyngeal pneumococcal serotypes and their antimicrobial susceptibility in children. **Methods.** A retrospective cohort study was conducted. We examined nasopharyngeal pneumococci isolated from children getting care at the National Medical Research Center of Children's Health (Moscow) in 2010–2016. Serotyping was performed using specific antisera and/or by molecular typing employing PCR. Susceptibility to oxacillin (OXA), erythromycin (ERY), clindamycin (CLI), trimethoprim/sulfamethoxazol, chloramphenicol and tetracycline was tested by the disk diffusion method. In 2013–2016, penicillin (PEN), amoxicillin (AMX), ERY and CLI minimal inhibitory concentrations (MIC) were measured. **Results.** A total of 1,111 pneumococcal isolates were examined; the sample was obtained from children with a median age of 4 years (P25–P75, 2.4–6.5 years). We identified 48 pneumococcal serotypes; six leading serotypes were serotypes 3, 6A, 6B, 14, 19F and 23F aggregating a proportion of 63.2% in the overall distribution. From 2010 to 2016, the distribution of serotypes has not changed. Wherein, 13-valent pneumococcal conjugate vaccine covered 74% of serotypes in children under 5 years. The five leading serotypes (6A, 6B, 14, 19F, 23F and serotype 19A) had the highest resistance rate. Within 2010–2016, the proportion of OXA- and ERY-resistant pneumococci grew from 21.3% to 35.9% and from 24.5% to 36.9%, respectively. The majority (81.3%) of ERY-resistant isolates possessed an MLSB-phenotype, i.e. were resistant to macrolides, lincosamides, and streptogramin B. In 2013–2016, the rate of PEN- and AMX-resistant pneumococci was 34.6% and 3.5%, respectively. **Conclusion.** Within the seven year study period, no major shifts in the nasopharyngeal pneumococcal serotype distribution were observed. The pneumococci remained highly susceptible to AMX, but activity of macrolides was significantly reduced. Considering the leading mechanism of macrolide resistance, the use of any macrolides or lincosamides for empiric treatment of pneumococcal infections in children is questionable.

Key words: children, pneumococcus, serotype, isolates, antibiotics, resistance, dynamics.

(**For citation:** Mayanskiy Nikolay A., Alyabieva Natalia M., Ponomarenko Olga A., Kulichenko Tatiana V., Artemova Inga V., Lazareva Anna V., Brozhozovskaya Ekaterina A., Shamina Olga V., Katosova Lyubovj K. Serotypes and Antimicrobial Susceptibility of Nasopharyngeal Pneumococci Isolated from Children in 2010–2016: A Retrospective Cohort Study. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics*. 2017; 16 (5): 413–423. doi: 10.15690/vsp.v16i5.1806)

* Изолят — популяция бактериальных клеток в чистой культуре, полученная в лаборатории из одной колонии с питательной среды и идентифицированная до уровня вида.

с помощью теста с оптохином и реакции латекс-агглютинации (Slidex Pneumo-Kit, BioMerieux, Франция). В 2010–2013 гг. капсульный тип пневмококков определяли путем серологического типирования в реакции латексной агглютинации и/или реакции набухания капсулы по Нейфельду с использованием сывороток Statens Serum Institut (Дания). Начиная с 2014 г. проводили молекулярное типирование серотипов методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с последующим серологическим типированием редких вариантов [19]. Нетипируемыми считали пневмококки, которые не агглютинировались ни одной из пуловых сывороток (пулы A-I и P-T).

Определение чувствительности к антибиотикам

Чувствительность пневмококков к оксациллину (Oxacillin, OXA), эритромицину (Erythromycin, ERY), клиндамицину (Clindamycin, CLI), сульфаметоксазолу/триметоприму (Sulfamethoxazole/Trimethoprim, SXT), хлорамфениколу (Chloramphenicol, CHL) и тетрациклину (Tetracycline, TET) определяли при помощи диско-диффузионного метода (диски Bio-Rad, США). Результаты интерпретировали согласно рекомендациям [20, 21]. В 2014–2016 гг. у OXA-, ERY- и CLI-резистентных пневмококков дополнительно определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) с использованием градиентных полосок (Е-тест; BioMerieux, Франция). МЛУ определяли у изолятов, резистентных к трем или четырем антибиотикам из числа OXA, ERY, CLI и SXT. У изолятов, устойчивых к OXA, определяли МПК пенициллина (Penicillin, PEN) и амоксициллина (Amoxicillin, AMX). Пограничные значения МПК (табл. 1) для PEN, ERY и CLI определяли в соответствии с критериями Европейского комитета по тестированию на восприимчивость к противомикробным препара-

там (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) [21], для AMX — с критериями Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) [22]. МПК антибиотика для 50 и 90% исследованных изолятов представляли в виде МПК₅₀ и МПК₉₀ соответственно. Наличие индуцибельной устойчивости к CLI у ERY-резистентных/CLI-чувствительных пневмококков регистрировали в случае уплощения зоны подавления роста (D-феномен) вокруг диска с CLI, расположенного рядом с ERY-диском (расстояние между краями дисков 12–16 мм). Детекцию генов резистентности *ermB* и *mef* у ERY-резистентных пневмококков проводили при помощи полимеразной цепной реакции описанными ранее методами [18, 23].

Этическая экспертиза

Заключение Этического комитета на проведение исследования не запрашивалось.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался и был ограничен числом изолятов пневмококка, выделенных за указанный выше период времени. Анализ полученных данных проводили при помощи пакета статистических программ SPSS v. 21.0 (IBM SPSS Statistics, США). При описании количественных признаков использовали значения медианы (25-й; 75-й перцентили). Для сравнения распределения серотипов и оценки значимости изменений их структуры и устойчивости к антибиотикам использовали таблицы сопряженности и критерий χ^2 . Для сравнения долей использовали Z-критерий. Для проверки равенства медиан нескольких независимых выборок применяли критерий Краскела–Уоллиса.

Таблица 1. Структура значений минимальной подавляющей концентрации пенициллина, амоксициллина, эритромицина и клиндамицина у носоглоточных изолятов пневмококков, выделенных в 2013–2016 гг.

Table 1. Minimum inhibitory concentrations of penicillin, amoxicillin, erythromycin, and clindamycin in nasopharyngeal pneumococci isolated in 2013–2016

АМП	Доля (%) изолятов с соответствующим значением МПК (мг/л) ^a												
	≤ 0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥ 256
PEN (n = 633)	65,4	6,5	4,4	6,3	11,1	4,1	1,3	0,6	0,3	0	-	-	-
AMX (n = 631)	68,8	6,5	2,4	4,8	9,0	5,1	2,9	0,6	0	0	-	-	-
ERY (n = 633)	-	-	64,8	0	0,5	0,9	1,4	2,2	1,9	1,1	0,2	0	27
CLI (n = 631)	-	-	-	78,1	0,3	0,3	0	0	0,2	0	0	0	21,1

АМП	Пограничные значения МПК (мг/л) ^б и доля (%) изолятов в соответствующей категории						МПК ₅₀	МПК ₉₀
	Чувствительные		Умеренно-резистентные		Резистентные			
	МПК	%	МПК	%	МПК	%	мг/л	
PEN (n = 633)	≤ 0,06	65,4	0,12–2	32,4	> 2	2,2	≤ 0,06	1
AMX (n = 631)	≤ 2	96,5	4	2,9	> 4	0,6	≤ 0,06	1
ERY (n = 633)	≤ 0,25	64,8	0,5	0	> 0,5	35,2	≤ 0,25	≥ 256
CLI (n = 631)	≤ 0,5	78,1	Нет	-	> 0,5	21,9	≤ 0,5	≥ 256

Примечание. ^a — диапазон исследованных МПК (мг/л): PEN и AMX — от ≤ 0,06 до ≥ 32; ERY — от ≤ 0,25 до ≥ 256; CLI — от ≤ 0,5 до ≥ 256.

^b — пограничные значения МПК PEN, ERY и CLI указаны согласно критериям EUCAST [20], AMX — согласно критериям CLSI [21].

АМП — антимикробный препарат, PEN — пенициллин, AMX — амоксициллин, ERY — эритромицин, CLI — клиндамицин, МПК — минимальная подавляющая концентрация.

Note. ^a — range of the studied MICs (mg/L): PEN and AMX — from ≤ 0.06 to ≥ 32; ERY — from ≤ 0.25 to ≥ 256; CLI — from ≤ 0.5 to ≥ 256.

^b — MIC breakpoints for PEN, ERY and CLI are specified according to EUCAST criteria [20], for AMX — according to CLSI criteria [21].

АМП — antimicrobial agent, PEN — penicillin, AMX — amoxicillin, ERY — erythromycin, CLI — clindamycin, МПК (MIC) — minimum inhibitory concentration.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Описание коллекции пневмококков

В анализ были включены 1111 изолятов пневмококков, выделенных в течение 2010–2016 гг. из носоглотки у детей. Для динамического анализа коллекция была разделена на 5 частей в соответствии с периодом выделения изолята: 2010/11 ($n = 195$), 2012 ($n = 282$), 2013 ($n = 197$), 2014/15 ($n = 142$), 2016 ($n = 295$). Возраст детей, у которых выделяли пневмококк в указанные 5 периодов исследования, не различался ($p = 0,539$) и составил по выборке в целом 4 (2,4; 6,5) года. Возрастная структура, т.е. соотношение детей в возрасте младше или старше 5 лет, в анализируемые периоды времени также была

сопоставимой ($p = 0,163$); всего в проанализированной когорте в возрасте ≤ 5 лет было 712/1111 (64,1%) детей.

Структура серотипов и ее динамика в 2010–2016 гг.

Всего было идентифицировано 48 различных серотипов пневмококков: 25 (2,3%) изолятов относились к категории нетипируемых; 6 ведущих педиатрических серотипов, включая серотипы 3, 6A, 6B, 14, 19F и 23F, суммарно составили 702 (63,2%) в общем распределении; чаще всего обнаруживали серотип 19F (18,8%) (табл. 2). Помимо перечисленных, заметную долю ($\geq 2\%$) имели серотипы 11A, 15B/C, 23A.

Таблица 2. Распределение серотипов носоглоточных изолятов ($n = 1111$) пневмококков, полученных в 2010–2016 гг.

Table 2. Serotype distribution of nasopharyngeal pneumococcal isolates ($n = 1,111$) obtained in 2010–2016

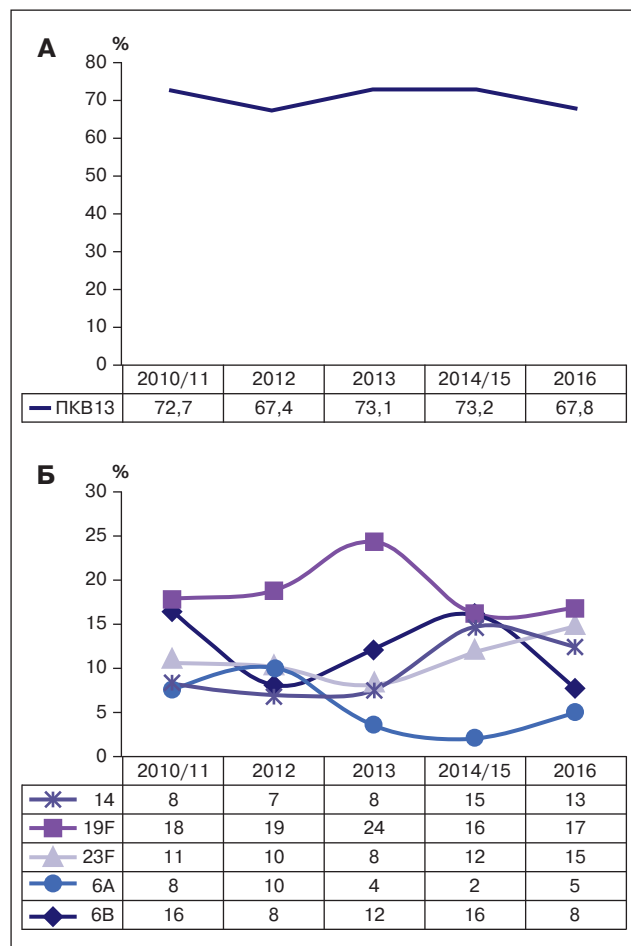
Серотип	Абс. (%)	Накопленный %
19F	209 (18,8)	18,8
23F	127 (11,4)	30,2
6B	125 (11,3)	41,5
14	109 (9,8)	51,3
6A	69 (6,2)	57,5
3	63 (5,7)	63,2
15B/C	53 (4,8)	68,0
11A	42 (3,8)	71,7
Нетипируемые	25 (2,3)	74,0
23A	23 (2,1)	76,1
19A	20 (1,8)	77,9
18C	20 (1,8)	79,7
35C	18 (1,6)	81,3
9V	17 (1,5)	82,8
33F	17 (1,5)	84,3
7F	16 (1,4)	85,8
9N	15 (1,4)	87,1
35F	14 (1,3)	88,4
10A	14 (1,3)	89,6
6C	14 (1,3)	90,9
37	10 (0,9)	91,8
6D	10 (0,9)	92,7
22F	9 (0,8)	93,5
34	8 (0,7)	94,2
15A	8 (0,7)	95,0
8	7 (0,6)	95,6
17F	6 (0,5)	96,1
16F	6 (0,5)	96,7
Другие	37 (3,3)	100

Примечание. Серотипы расположены в порядке убывания их частоты. Показаны 27 серотипов с частотой ≥ 5 изолятов и нетипируемые изоляты. Остальные серотипы вошли в категорию «Другие» (всего 21 серотип, в порядке убывания частоты): 35B — 4; 23B — 3; 31 — 3; серотипы 1, 4, 12F, 13, 20, 21, 28A, 38, 39 — по 2 каждый; серотипы 7C, 9A, 10B, 11D, 15F, 24A, 24F, 28F, 42 — по 1 каждый.

Note. Serotypes are arranged in descending order of their frequency. 27 serotypes with a frequency of ≥ 5 isolates and non-typeable isolates are shown. The remaining serotypes were included in the category «Other» (total 21 serotype, in descending order of frequency): 35B — 4; 23B — 3; 31 — 3; serotypes 1, 4, 12F, 13, 20, 21, 28A, 38, 39 — 2 each; serotypes 7C, 9A, 10B, 11D, 15F, 24A, 24F, 28F, 42 — 1 each.

Рис. 1. Динамика распространенности (%) отдельных серотипов носоглоточных изолятов пневмококка в 2010–2016 гг.

Fig. 1. Dynamics of the prevalence (%) of specific serotypes of nasopharyngeal pneumococcal isolates in 2010–2016



Примечание. ПКВ13 — 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина. А — суммарная доля серотипов, входящих в состав ПКВ13 [1, 3, 4, 5 (не обнаружен), 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F]; Б — доля пяти наиболее распространенных серотипов. Динамика распространенности (%) серотипов в соответствующий период времени. Число изолятов по периодам: 2010/11 — 195; 2012 — 282; 2013 — 197; 2014/15 — 142; 2016 — 295.

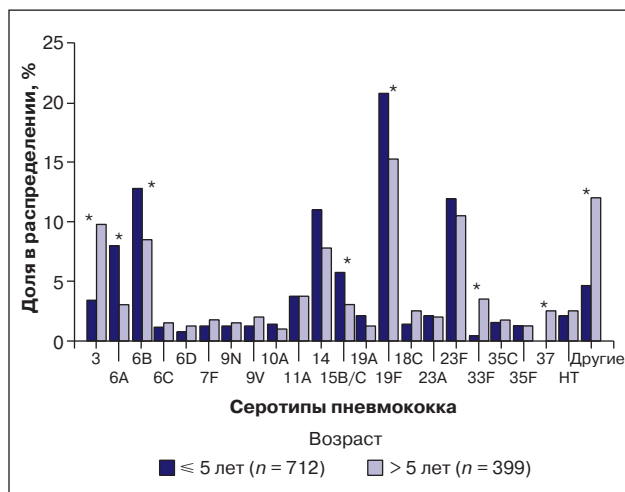
Note. PCV13 — 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. A — the total proportion of serotypes that make up PCV13 [1, 3, 4, 5 (not found), 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F]; B — proportion of the 5 most common serotypes. The figure indicates the proportion of serotypes (%) in the corresponding period of time. Number of isolates by period: 2010/11 — 195; 2012 — 282; 2013 — 197; 2014/15 — 142; 2016 — 295.

За семилетний период наблюдения структура серотипов в целом не претерпела заметных изменений. Так, доля серотипов, входящих в 13-валентную ПКВ [1, 3, 4, 5 (не обнаружен), 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F], с течением времени существенно не менялась ($p = 0,423$; рис. 1, А), составив в среднем 70,2% (95% доверительный интервал, ДИ, 67,5–72,9). Отметим, что доля вакцинных серотипов была значимо выше у детей в возрасте до 5 лет, достигнув 74% (95% ДИ 70,8–77,2), против 63,3% (95% ДИ 58,6–68) у старших детей ($p < 0,001$).

Динамика распространенности отдельных серотипов показала разнонаправленные тренды (рис. 1, Б). Доля серотипа 14 повысилась с 8% в 2010/2011 г. до 13–15% в 2014–2016 ($p = 0,033$), а в группе младших детей этот рост был еще заметнее — соответственно с 7,3 до 16,6%.

Рис. 2. Распределение серотипов носоглоточных изолятов пневмококка у детей разных возрастных групп

Fig. 2. Serotype distribution of nasopharyngeal pneumococcal isolates in children of different age groups



Примечание. Серотипы расположены в порядке их номенклатуры. Приведен 21 серотип, представленный ≥ 10 изолятами каждый.

* — значимые отличия долей между двумя возрастными группами: 6B — $p = 0,031$; 19F — $p = 0,024$; 3, 33F, 37, «Другие» — $p < 0,001$. HT — нетипируемые серотипы.

Note. Serotypes are arranged in the order of their nomenclature. There are 21 serotypes represented by ≥ 10 isolates each.

* — significant differences in proportions between two age groups: 6B — $p = 0,031$; 19F — $p = 0,024$; 3, 33F, 37, Other — $p < 0,001$. HT — non-typeable serotypes.

Напротив, частота серотипов 6A и 6B демонстрировала значимый тренд к снижению (в обоих случаях $p = 0,003$). Частота выявления серотипов 19F и 23F в период наблюдения носила осциллирующий характер, без явно направленных трендов ($p = 0,251$ и $0,188$ соответственно; см. рис. 1, Б). Из числа редких серотипов обращает на себя внимание динамика серотипа 37: все 10 его изолятов были получены в первые годы наблюдения (2010–2012 гг.) и не встречались в дальнейшем.

Распределение серотипов пневмококков в зависимости от возраста

Распределение серотипов зависело от возраста ($p < 0,001$). У детей младше 5 лет были выявлены 39 серотипов, у детей старше 5 лет — 41 серотип. Серотипы 6A, 6B, 15B/C и 19F чаще встречались в младшей возрастной группе, а серотипы 3, 33F и 37 были больше распространены у детей старше 5 лет, причем серотип 37 встречался исключительно у старших детей (рис. 2).

Устойчивость к антибиотикам и ее динамика

Устойчивость к различным группам антибиотиков по выборке в целом варьировала от $< 5\%$ для CHL до 47,8% для SXT, при этом доля изолятов с МЛУ составила 23,5% (табл. 3). Частота изолятов, устойчивых к OXA и ERY, составила 30,7 и 29,9% соответственно. Устойчивость к антибиотикам была свойственна ограниченному числу пневмококковых серотипов. Основная доля резистентных изолятов, в т. ч. изолятов с МЛУ, приходилась на пневмококки пяти наиболее распространенных серотипов (6A, 6B, 14, 19F и 23F) и серотипа 19A (см. табл. 3). Частота SXT-резистентных пневмококков среди них варьировала от 50,8 до 74,4%, более 50% пневмококков серотипов 14, 19A и 19F обладали устойчивостью к OXA. Эти же серотипы и серотип 6B отличались высокой резистентностью к ERY и TET. Более 40% 6B- и 19F-изолятов

Таблица 3. Устойчивость к антибиотикам носоглоточных изолятов пневмококков, выделенных в 2010–2016 гг.
Table 3. Antibiotic resistance of nasopharyngeal pneumococci isolated in 2010–2016

Серотип	Число (%) резистентных изолятов в структуре соответствующего серотипа						
	OXA	ERY	CLI ^a	SXT	CHL	TET	МЛУ ^b
6A	18/67 (26,9)	21/67 (31,3)	6/66 (9,1)	44/67 (65,7)	2/22 (9,1)	4/17 (23,5)	7/67 (10,4)
6B	36/125 (28,8)	67/125 (53,6)	55/124 (44,4)	71/125 (56,8)	4/77 (5,2)	21/33 (63,5)	52/125 (41,6)
14	74/109 (67,9)	59/109 (54,1)	25/109 (22,9)	81/109 (74,3)	3/109 (2,8)	16/46 (34,8)	54/109 (49,5)
19A	13/20 (65)	8/20 (40)	5/20 (25)	12/20 (60)	0/19 (0)	5/10 (50)	7/20 (35)
19F	113/207 (54,6)	112/207 (54,1)	100/207 (48,3)	138/205 (67,3)	11/138 (8,0)	50/74 (67,6)	98/207 (47,3)
23F	45/126 (35,7)	20/126 (15,9)	8/125 (6,4)	64/126 (50,8)	5/78 (6,4)	7/50 (14)	15/126 (11,9)
Другие	37/440 (8,4)	41/440 (9,3)	27/438 (6,2)	111/439 (25,3)	4/226 (1,8)	21/129 (16,3)	24/440 (5,5) ^b
Все серотипы	336/1094 (30,7)	328/1094 (29,9)	227/1089 (20,8)	521/1091 (47,8)	29/669 (4,3)	124/359 (34,5)	257/1094 (23,5)

Примечание. OXA — оксациллин, ERY — эритромицин, CLI — клиндамицин, SXT — сульфаметоксазол/триметоприм, CHL — хлорамфеникол, TET — тетрациклин, МЛУ — множественная лекарственная устойчивость. ^a — представлены результаты определения чувствительности к CLI без оценки индуцибельной CLI-резистентности у ERY-резистентных изолятов в присутствии макролида (см. «Методы»). ^b — МЛУ определяли по чувствительности к 4 антибиотикам — PEN, ERY, CLI и SXT. ^b — другие МЛУ-серотипы (число нечувствительных изолятов / всего изолятов, в порядке номенклатуры серотипов): 6C (1/13), 9N (1/15), 9V (5/17), 11A (3/42), 13 (1/2), 15A (1/8), 20 (1/2), 23A (3/23), 24F (1/1), 31 (1/3), 35C (2/18), нетипируемые (4/22).

Note. OXA — oxacillin, ERY — erythromycin, CLI — clindamycin, SXT — sulfamethoxazole/trimethoprim, CHL — chloramphenicol, TET — tetracycline, МЛУ (MDR) — multi-drug resistant. ^a — the results of CLI susceptibility determination without evaluation of inducible CLI-resistance in ERY-resistant isolates in the presence of macrolide (see «Methods») are presented. ^b — MDR was determined by susceptibility to 4 antibiotics — PEN, ERY, CLI, and SXT. ^b — other MDR-serotypes (the number of insusceptible isolates / total isolates, in the order of serotypes nomenclature): 6C (1/13), 9N (1/15), 9V (5/17), 11A (3/42), 13 (1/2), 15A (1/8), 20 (1/2), 23A (3/23), 24F (1/1), 31 (1/3), 35C (2/18), non-typeable (4/22).

Таблица 4. Динамика устойчивости носоглоточных изолятов пневмококков к антибиотикам в 2010–2016 гг.
Table 4. Dynamics of antibiotic resistance of nasopharyngeal pneumococcal isolates in 2010–2016

Антибиотик	Период тестирования, годы ^a					p ^b
	2010/2011	2012	2013	2014/2015	2016	
OXA	40/189 (21,3)	69/274 (25,4)	63/197 (32)	58/142 (40,8)	106/295 (35,9)	0,001
ERY	46/189 (24,5)	58/274 (21,2)	55/197 (27,9)	60/142 (42,3)	109/295 (36,9)	0,001
CLI ^a	37/186 (19,9)	47/272 (17,3)	43/192 (21,8)	31/142 (21,8)	69/295 (23,4)	0,482
SXT	110/186 (59,1)	135/274 (49,3)	103/197 (52,3)	64/142 (45,1)	111/295 (37,6)	0,001
CHL	6/41 (14,6)	3/40 (7,5)	1/151 (0,7)	5/142 (3,5)	14/295 (4,7)	0,002
TET	15/25 (60,0)	17/28 (60,7)	7/14 (53,8)	НТ	85/293 (29,0)	0,001

Примечание. OXA — оксациллин, ERY — эритромицин, CLI — клиндамицин, SXT — сульфаметоксазол/триметоприм, CHL — хлорамфеникол, TET — тетрациклин. ^a — приведено число резистентных / число тестированных изолятов и доля (%) резистентных изолятов. ^b — значение p рассчитано для df = 4 (в случае TET — для df = 3), статистически значимый результат указывает на изменение частоты резистентных изолятов в течение 2010–2016 гг. ^b — представлены результаты определения чувствительности к CLI без проведения оценки индуцибельной CLI-резистентности у ERY-резистентных изолятов в присутствии макролида (см. «Методы»). НТ — не тестировали.

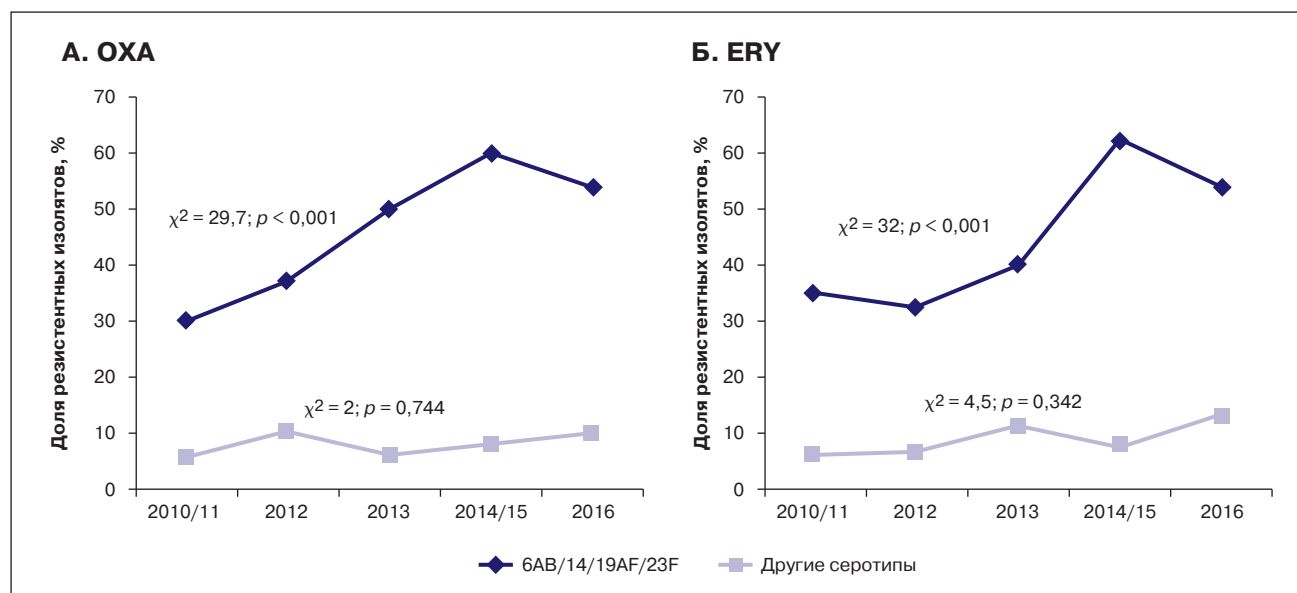
Note. OXA — oxacillin, ERY — erythromycin, CLI — clindamycin, SXT — sulfamethoxazole/trimethoprim, CHL — chloramphenicol, TET — tetracycline. ^a — the number of resistant/tested isolates and the proportion (%) of resistant isolates are given. ^b — p-value is calculated for df = 4 (for TET, df = 3); a statistically significant result indicates a change in the incidence of resistant isolates during 2010–2016. ^b — the results of CLI susceptibility determination without evaluation of inducible CLI-resistance in ERY-resistant isolates in the presence of macrolide (see «Methods»). НТ — not tested.

были CLI-резистентны. Наибольшая доля пневмококков с МЛУ была у серотипов 6B (41,6%), 14 (49,5%), 19A (35%), 19F (47,3%) (см. табл. 3). Резистентность была менее выражена у пневмококков серотипов 6A и 23F (10,4 и 11,9% изолятов с МЛУ соответственно).

Доля резистентных изолятов среди пневмококков других серотипов не превышала 10% для OXA, ERY, CLI и CHL; к SXT и TET были устойчивы соответственно 25,3 и 16,3% изолятов (см. табл. 3). МЛУ обладала минимальная часть (5,5%) из этих пневмококков. В их числе выделялся серотип 9V, 5 (29,4%) из 17 изолятов которого имели МЛУ (все МЛУ-серотипы перечислены в примечании к табл. 3).

Частота устойчивости пневмококков в отношении всех исследованных антибиотиков, за исключением CLI, в течение 2010–2016 гг. значимо изменилась (табл. 4). По сравнению с начальным периодом наблюдения в 2014–2016 гг. возросла распространенность OXA-и ERY-резистентных пневмококков, которая в 2016 г. достигла соответственно 35,9 и 36,9%. Вместе с тем для SXT, CHL и TET просматривался противоположный тренд, т.е. доля резистентных изолятов за время наблюдения значимо снизилась (см. табл. 4). Примечательно, что устойчивость к OXA и ERY преимущественно нарастала в популяции наиболее распространенных серо-

Рис. 3. Динамика устойчивости носоглоточных изолятов пневмококка к оксациллину (А) и эритромицину (Б) в зависимости от серотипа
Fig. 3. Dynamics of the resistance of nasopharyngeal pneumococcal isolates to oxacillin (A) and erythromycin (B), depending on the serotype



Примечание. Над кривыми указаны значения критерия χ^2 и p для трендов изменения частоты резистентных изолятов в течение 2010–2016 гг. OXA — оксациллин, ERY — эритромицин.
Note. χ^2 and p criteria values for the change in frequency of resistant isolates during 2010–2016 are indicated above the curves.
 OXA — oxacillin, ERY — erythromycin.

типов, в то время как доля устойчивых изолятов среди других серотипов за период наблюдения изменилась незначимо (рис. 3). Наиболее значимый индивидуальный тренд на повышение резистентности к OXA и ERY ($p = 0,005$ и $0,007$ соответственно) показал серотип 14: к 2016 г. доля нечувствительных пневмококков этого серотипа достигла 68% для PEN и 60% для ERY.

Распределение минимальной подавляющей концентрации PEN, AMX, ERY и CLI

Начиная с 2013 г. мы ввели определение МПК PEN, AMX, ERY и CLI у пневмококков, которые показали резистентность по результатам тестирования диско-диффузионным методом. Различия частоты изолятов в категориях МПК по периодам исследования оказались незначимы (данные не представлены), поэтому результаты были проанализированы в целом по выборке 2013–2016 гг.

Скрининг чувствительности к β -лактамам, проведенный с помощью диска с OXA, показал наличие резистентности у 226/633 (35,7%) изолятов пневмококка, исследованных в 2013–2016 гг. Из числа OXA-резистентных пневмококков 219/226 (96,9%) относились к категории нечувствительных к PEN (МПК $> 0,06$ мг/л) по результатам Е-теста, т.е. доля PEN-нечувствительных изолятов по выборке в целом составила 34,6% (219/633; см. табл. 1). Подавляющее большинство изолятов (96,5%) имели МПК AMX ≤ 2 мг/л, т.е. были чувствительны к этой антибиотик.

Резистентностью к ERY и CLI (CLI — без учета индуцибельной резистентности; см. ниже) в 2013–2016 гг. обладали 224/633 (35,4%) и 138/631 (21,9%) изолятов пневмококка соответственно. Тестирование МПК у ERY- и CLI-резистентных пневмококков показало, что более 90% из них имели МПК ≥ 256 мг/л (см. табл. 1).

Из 219 PEN-нечувствительных пневмококков 164 (74,9%) имели ассоциированную резистентность к ERY. По выборке в целом доля PEN-нечувствительных/ERY-резистентных изолятов составила 25,9% (164/633).

Фенотип и механизмы формирования устойчивости к макролидам и линкозамидам

Настоящий анализ, как и оценка МПК, был проведен на выборке 2013–2016 гг. Из 224 ERY-резистентных пневмококков 85 (37,9%) изолятов были носителями гена *ermB*, еще у 92 (41,1%) изолятов было выявлено сочетание *ermB* и *mef* (табл. 5). Ген *mef* имели 40 (17,9%) ERY-резистентных изолятов, еще у 7 (3,1%) изолятов ни один из генов не определялся. Таким образом, ген *ermB* был обнаружен у 177/224 (79%) ERY-резистентных пневмококков. Тестирование чувствительности к линкозамиду CLI показал наличие резистентности к нему у 142/224 (63,4%) ERY-резистентных пневмококков, что соответствовало конститутивному MLS_B-фенотипу (сMLS_B). Ген *ermB* был обнаружен у 138/142 сMLS_B-изолятов; оставшиеся 4 изолята оказались *ermB/mef*-негативными (см. табл. 5).

При тестировании диско-диффузионным методом чувствительность к CLI показали 82/224 (36,6%) ERY-резистентных пневмококков. Эти изоляты были исследованы на наличие индуцибельной резистентности к CLI (фенотип iMLS_B) путем определения активности CLI в присутствии макролида (диска с ERY; подробно см. «Методы»). Подавление активности CLI было выявлено у 40/82 (49%) изолятов, что позволило отнести их к CLI-резистентным пневмококкам с iMLS_B-фенотипом. Все iMLS_B-пневмококки (за исключением двух) были носителями *ermB*, как и изоляты с конститутивной устойчивостью к CLI (см. табл. 5). В отношении остальных 42/82 (51%) изолятов CLI сохранял активность в присутствии ERY, т.е. эти изоляты были CLI-чувствительными, обладая М-фенотипом (устойчивость только к макролидам). Среди пневмококков с М-фенотипом доминировали носители *mef* (39/42, 93%; см. табл. 5).

Таким образом, с учетом индуцибельной резистентности в выборке 2013–2016 гг. доля CLI-резистентных пневмококков составила 28,8% (182/631), а среди ERY-резистентных изолятов этого периода — 81,3% (182/224).

Таблица 5. Полиморфные варианты генов *ermB* и *mef* у эритромицинрезистентных пневмококков и их чувствительность к клиндамицину
Table 5. Polymorphic variants of the *ermB* and *mef* genes in erythromycin-resistant pneumococci and their susceptibility to clindamycin

Фенотип	Генотип, абс. (%)			
	<i>ermB</i> +/ <i>mef</i> -	<i>ermB</i> +/ <i>mef</i> +	<i>ermB</i> -/ <i>mef</i> +	<i>ermB</i> -/ <i>mef</i> -
Всего ERY-резистентных, n = 224	85 (37,9)	92 (41,1)	40 (17,9)	7 (3,1)
• cMLS _B -фенотип (CLI-резистентность), n = 142	57 (40,0)	81 (57,0)	0	4 (3,0)
• iMLS _B -фенотип (CLI-резистентность), n = 40	28 (70)	10 (25)	1 (2,5)	1 (2,5)
• M-фенотип (CLI-чувствительность), n = 42	0	1 (2,0)	39 (93,0)	2 (5,0)

Примечание. ERY — эритромицин, CLI — клиндамицин. cMLS_B-фенотип — конститутивная устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам, стрептограмину В; iMLS_B-фенотип — индуцибельная устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам, стрептограмину В (наличие индуцибельной устойчивости регистрировали в случае уплощения зоны подавления роста вокруг диска с CLI, расположенного рядом с ERY-диском); M-фенотип — устойчивость к 14- и 15-членным макролидам.
Note. ERY — erythromycin, CLI — clindamycin. cMLS_B-phenotype — constitutive resistance to all macrolides, lincosamides, streptogramin B; iMLS_B-phenotype — inducible resistance to all macrolides, lincosamides, streptogramin B (the presence of inducible resistance was recorded when the growth suppression zone was flattened around the disk with CLI adjacent to ERY disk); M-phenotype — resistance to 14- and 15-membered macrolides.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Серотиповой спектр носоглоточных пневмококков у детей в течение последних 7 лет существенно не изменился. Вместе с тем имеет место закономерное нарастание их устойчивости к антибиотикам из групп β-лактамов и макролидов.

Обсуждение основного результата исследования Динамика структуры серотипов пневмококков

В настоящей работе описаны серотиповое разнообразие и профиль устойчивости к антибиотикам более 1000 носоглоточных изолятов пневмококков, выделенных в 2010–2016 гг. от детей, получавших стационарную или амбулаторную помощь в НМИЦ здоровья детей. Представленный материал проспективно дополняет и обобщает результаты наших исследований предыдущих лет [10, 16]. За указанный период наблюдения распределение серотипов в целом существенно не изменилось. В числе лидеров остались педиатрические серотипы 19F, 23F, 6B, 14, 6A и 3, которые в совокупности составили 63,2%. ПКВ13 охватывала 74% серотипов у детей до 5 лет. Серотиповой пейзаж неинвазивных пневмококков, включая носоглоточные изоляты, в других регионах России имел похожий состав [12, 13, 24]. В нашем исследовании впервые в России полностью расшифрована серотиповая структура пневмококков серогруппы 6. Было показано, что наряду с распространенными серотипами 6A и 6B в циркуляции присутствовали невакцинные серотипы 6C (1,3%) и 6D (0,9%). Имеются сообщения об увеличении носительства 6C-пневмококков в пост-ПКВ периоде, поскольку вакцинация ПКВ13 за счет серотипа 6A обеспечивает ограниченный перекрестный иммунитет в отношении серотипа 6C [25, 26]. Несмотря на то, что часть работы, относящаяся к 2016 г., была выполнена после включения пневмококковой вакцинации в российский Национальный календарь прививок в марте 2014 г. [9], оценивать влияние ПКВ на структуру циркулирующих серотипов пневмококка преждевременно. Так, существуют данные о том, что значимое изменение серотипового состава под давлением ПКВ на популяционном уровне можно ожидать не ранее чем через 5 лет от начала ее применения при условии высокого охвата вакцинацией (≥ 90% новорожденных) [27]. Вместе с тем локальные исследования даже небольших когорт вакцинированных могут быть полезны для демонстрации эффекта ПКВ. В этом смысле показательна работа И.Н. Протасовой и соавт. из Красноярска [24], которые наблюдали более

100 детей до и через 2 года после вакцинации 7-валентной ПКВ. Авторы зафиксировали у вакцинированных детей ожидаемое снижение доли вакцинных серотипов, а также феномен замещения серотипов в виде роста серотипа 19A, не входящего в состав ПКВ7 [24, 28]. Таким образом, серозидемиология пневмококков в России в пост-ПКВ период требует дальнейшего планомерного мониторингирования.

Динамика устойчивости пневмококков к антибиотикам

Как показало наше исследование, относительная стабильность серотипового пейзажа пневмококков сочеталась с нарастанием устойчивости к β-лактамам и макролидам. Так, резистентность к ОХА выросла с 21,3% в 2010/11 до 35,9% в 2016 г. У подавляющего большинства ОХА-резистентных изолятов наблюдалось также снижение чувствительности к PEN, в итоге доля PEN-нечувствительных изолятов составила 34,6%. Согласно критериям CLSI (МПК ≤ 2 мг/мл), AMX сохраняла активность в отношении 96,5% исследованных изолятов. Похожие результаты были получены при исследовании пневмококков, выделенных в Санкт-Петербурге в 2010–2013 гг. [12]. Авторы наблюдали снижение чувствительности к PEN у 32,4%, а к AMX — у 4,8% изолятов. Анализ 148 пневмококков, полученных в 4 центрах на территории России в 2012–2013 гг., показал снижение чувствительности к AMX в 16,2% случаев, в т.ч. наличие резистентности (МПК > 4 мг/л) у 8,1% пневмококков [29].

Наши результаты и приведенные данные литературы свидетельствуют о заметном росте устойчивости пневмококков к β-лактамам в последние годы. Так, по данным крупного многоцентрового исследования ПеГАС (1999–2009 гг.) [15], доля пневмококков со сниженной чувствительностью к PEN не превышала 10–11%, а устойчивостью к AMX обладали единичные изоляты (< 1%, что существенно меньше современных цифр). Устойчивость пневмококков к PEN в Москве в 2003 г. составила 18,6% [30]. Более того, за последние годы значительно возросла МПК₉₀ PEN и AMX, которая, по нашим данным, достигла 1 мг/л, тогда как исследование ПеГАС сообщало о МПК₉₀ PEN и AMX 0,06–0,125 и 0,06–0,25 мг/л соответственно [15]. Хотя большинство пневмококков по-прежнему относились к категории AMX-чувствительных, увеличение МПК этого антибиотика, возрастание доли PEN-нечувствительных и ОХА-резистентных изолятов свидетельствует о качествен-

ных изменениях механизмов устойчивости к β -лактамам в бактериальной популяции, в первую очередь о снижении аффинности пенициллинсвязывающих белков [31]. При сохранении такой динамики появление клинически значимой резистентности пневмококков к этой группе антибиотиков выглядит вполне вероятным.

На фоне умеренных изменений чувствительности к AMX активность макролидов и линкозамидов в отношении пневмококков драматично снизилась в период 2010–2016 гг. по сравнению с 1999–2009 гг. [15]. Если в исследовании ПеГАС доля нечувствительных к ERY изолятов колебалась от 4,6 до 8,2%, то в нашей выборке она составила 29,9%, значимо увеличившись с 24,5% в 2010/11 до 36,9% в 2016 г. Более того, свыше 75% ERY-резистентных изолятов демонстрировали максимальную МПК (≥ 256 мг/л), что радикально отличалось от данных ПеГАС, где МПК₉₀ ERY не превышала 0,06 мг/л [15]. По данным последних лет, высокий уровень устойчивости пневмококков к ERY был обнаружен также в Санкт-Петербурге (33,2%) [12], а тестирование активности азитромицина в отношении изолятов 2012–2013 гг. продемонстрировало наличие резистентности у 43,9% пневмококков [29]. Доля CLI-резистентных изолятов с учетом индуцибельной резистентности в исследованной нами выборке пневмококков составила 28,8% против 2,9–4,5% в 1999–2009 гг. [9] с увеличением МПК₉₀ до ≥ 256 мг/л.

Доминирующим механизмом резистентности к макролидам и линкозамидам было метилирование мишени, опосредуемое через ген *ermB* [32]. Он присутствовал у 80% ERY-резистентных изолятов, обеспечивая им MLS_B-фенотип (конститутивный или индуцибельный), т.е. перекрестную устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограминам [32]. Лишь небольшая доля (18,7%) ERY-резистентных пневмококков, несущих *tef*, сохраняла чувствительность к CLI (М-фенотип). Таким образом, iMLS_B-фенотип имела почти 1/5 часть всех CLI-резистентных пневмококков. Это подтверждает целесообразность оценки индуцибельной резистентности к CLI у ERY-резистентных/CLI-чувствительных изолятов, которая на практике проводится редко, несмотря на наличие рекомендаций [20, 21].

Доминирование в России *ermB*-ассоциированных механизмов устойчивости пневмококков описывалось ранее как нами [16], так и другими исследователями [23]. Анализ изолятов 2003–2005 гг. показал наличие устойчивости к ERY в 11,1% случаев, при этом ген *ermB* был обнаружен у 80% ERY-резистентных пневмококков [23]. В их числе примерно равная доля изолятов обладала индуцибельным (41%) или конститутивным (39%) MLS_B-фенотипом, остальные (20%) имели М-фенотип. Сравнение этих результатов с нашими данными указывает на увеличение распространенности пневмококков с cMLS_B-фенотипом (69,4%) за счет снижения доли изолятов с индуцибельной резистентностью (17,9%). Интересно, что в нашей выборке из 40 пневмококков с iMLS_B-фенотипом 26 (65%) изолятов принадлежали к серотипу 14 и 7 (18%) изолятов — к серотипу 6B, тогда как в сообщении R. Reinert и соавт. более 50% iMLS_B-изолятов относились к серотипу 6B, а серотип 14 вообще не встречался в числе ERY-резистентных пневмококков [23]. Это свидетельствует о существенных сдвигах в пневмококковой популяции на молекулярно-генетическом уровне, которые способствуют отбору и экспансии наиболее адаптированных клонов [2].

Таким образом, полученные в настоящей работе данные и ряд результатов других исследований свидетельствуют о нарастании устойчивости пневмококков к макролидам, которая достигла в последние годы

35–45%, по меньшей мере в европейской части России. Более того, преобладание механизмов резистентности, связанных с метилированием мишени, не дает больших преимуществ линкозамидам и 16-членным макролидам [32, 33]. Это ставит под вопрос адекватность использования указанных групп антибиотиков в качестве эмпирической терапии пневмококковых инфекций.

Более благоприятной выглядит ситуация с резистентностью в азиатской части России. Так, в Хабаровском крае доля PEN-устойчивых пневмококков составила 26%, а ERY-резистентность варьировала от 13 до 19% (исследовали 68 изолятов) [14]. В Красноярске было показано наличие устойчивости к PEN у 7% пневмококков, к ERY — у 17%, к CLI — у 10% (исследовали 30 изолятов) [17]. Очевидно, что фактических данных из небольших выборок недостаточно для уверенных выводов о положении в целом, тем более что в этих регионах требуется особенно тщательное наблюдение за резистентностью и ее динамикой. Это связано с географической близостью стран Юго-Восточной Азии, прежде всего Китая, где уровень резистентности пневмококков — один из самых высоких в мире: доля PEN-нечувствительных пневмококков приближается к 70%, а резистентность к ERY и CLI превышает 90% [34].

В целом наши данные сопоставимы с результатами оценки уровня резистентности пневмококков в странах Европы, проведенной в 2009–2012 гг.: нечувствительность к PEN составила 28,9%, к ERY — 28,5%, к CLI — 19,5%, а к AMX были устойчивы менее 5% изолятов [35].

Активность представителей других групп антибиотиков, включая SXT, TET и CHL, продемонстрировала значимые повышающиеся тренды. Исследованные пневмококки оказались наименее резистентны к CHL (4,3% по выборке в целом), а доля SXT- и TET-резистентных изолятов в 2016 г. составила 37,6 и 29% соответственно.

Важно подчеркнуть, что устойчивость к антибиотикам концентрировалась преимущественно среди пневмококков серогрупп/серотипов 6, 14, 19, 23F, а также 9V, которые включали более 90% резистентных изолятов. Именно за счет этих серовариантов пневмококков возросла устойчивость к β -лактамам и макролидам по популяции в целом. В связи с тем, что имеющиеся ПКВ перекрывают эти серотипы, с ростом охвата вакцинацией можно ожидать снижения уровня устойчивости за счет выхода из циркуляции резистентных вакцинных серотипов, как это наблюдали в других странах в пост-ПКВ периоде [6, 36].

Ограничения исследования

Одним из ограничений данного исследования является анализ неинвазивных носоглоточных пневмококков, т.е. бактерий, выделенных из нестерильных локусов и прямо не ассоциированных с инвазивными пневмококковыми инфекциями. Отсутствие микробиологических исследований крови и ликвора в рутинной педиатрической практике и/или частые технические ошибки при взятии проб крови на посев являются существенным ограничением для формирования коллекции инвазивных пневмококков. Вместе с тем колонизация носоглотки обязательно предшествует развитию инвазивных инфекций, поэтому носоглоточное носительство пневмококков рассматривают как адекватное отражение спектра потенциальных возбудителей инвазивных пневмококковых инфекций [37]. Более того, изучение носоглоточных пневмококков служит основой эпидемиологических исследований их серотипового состава, антибиотикорезистентности и эффективности вакцинации на популяционном уровне [38].

Другое ограничение заключается в том, что в представленном анализе антибиотикорезистентности пневмококков мы не учитывали предшествующее использование антимикробных препаратов пациентами. Это, безусловно, важно для определения факторов риска формирования устойчивости к антибиотикам, однако в данной работе мы не ставили такой задачи. Антибиотикорезистентность зависит от реальной практики антибактериальной терапии [4, 29, 34]. Отсутствие данных о частоте и длительности лечения антибиотиками, включенных в представленное одноцентровое исследование детей, не позволяет прямо экстраполировать полученные результаты на всю популяцию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа является первым исследованием, в котором проведен многолетний динамический анализ большой выборки носоглоточных изолятов пневмококков, полученных у детей в крупнейшем по населению регионе России. Полученные данные показали, что за 7 лет (с 2010 по 2016 гг.) наблюдения в отсутствие крупных сдвигов в структуре серотипов ситуация с устойчивостью пневмококков к β -лактамам и макролидам развивалась неблагоприятно. Это подчеркивает необходимость проведения мероприятий по рационализации использования антибиотиков. Продолжение работы по сбору и анализу данных о структуре серотипов пневмококков и их устойчивости к антибиотикам в пост-ПКВ периоде позволит оценить эффективность вакцинации и наметить направления для разработки новых вакцин.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья опубликована при финансовой поддержке компании Pfizer. Представители компании не принимали

участие в планировании, проведении и обсуждении результатов настоящего исследования.

FINANCING SOURCE

The article has been published with the financial support of Pfizer. Company representatives did not participate in planning, conduct and discussion of the results of this study.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Н. А. Маянский — получение исследовательских грантов, а также гонораров за выступление в качестве спикера от фармацевтических компаний Pfizer и GlaxoSmithKline.

Т. В. Куличенко — получение исследовательских грантов от фармацевтических компаний Pfizer, Abbott, а также гонораров за выступление в качестве спикера от компаний Merck, Pfizer, Pierre Fabre.

Остальные авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

CONFLICT OF INTERESTS

Nikolay A. Mayanskiy — receiving research grants and fees for being a speaker from pharmaceutical companies Pfizer and GlaxoSmithKline.

Tatiana V. Kulichenko — receiving research grants from pharmaceutical companies Pfizer, Abbott and fees for being a speaker from Merck, Pfizer, Pierre Fabre.

The other contributors confirmed the absence of a reportable conflict of interests.

ORCID

Н. А. Маянский <http://orcid.org/0000-0001-8077-5313>

Т. В. Куличенко <http://orcid.org/0000-0002-7447-0625>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Croucher NJ, Harris SR, Fraser C, et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions. *Science*. 2011; 331(6016):430–434. doi: 10.1126/science.1198545.
2. Henriques-Normark B, Blomberg C, Dagerhamn J, et al. The rise and fall of bacterial clones: streptococcus pneumoniae. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(11):827–837. doi: 10.1038/nrmicro2011.
3. Richter SS, Musher DM. The ongoing genetic adaptation of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 2017;55(3):681–685. doi: 10.1128/JCM.02283-16.
4. Goossens H. Antibiotic consumption and link to resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15 Suppl 3:12–15. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02725.x.
5. Azzari C, Martinon-Torres F, Schmitt HJ, Dagan R. Evolving role of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in clinical practice. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33(8):858–864. doi: 10.1097/INF.0000000000000328.
6. Richter SS, Diekema DJ, Heilmann KP, et al. Changes in pneumococcal serotypes and antimicrobial resistance after introduction of the 13-valent conjugate vaccine in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(11):6484–6489. doi: 10.1128/AAC.03344-14.
7. van der Linden M, Falkenhorst G, Perniciaro S, et al. Effectiveness of Pneumococcal Conjugate Vaccines (PCV7 and PCV13) against invasive pneumococcal disease among children under two years of age in Germany. *PLoS One*. 2016;11(8):e0161257. doi: 10.1371/journal.pone.0161257.
8. Рудакова А.В., Баранов А.А., Лобзин Ю.В., и др. Фармакоэкономические аспекты вакцинации детей 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакциной в Российской Федерации // *Вопросы современной педиатрии*. — 2014. — Т. 13. — № 1 — С. 51–59. [Rudakova AV, Baranov AA, Lobzin YuV, et al. Pharmacoeconomic assessment of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in immunization of children in Russian Federation. *Current pediatrics*. 2014;13(1):51–59. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v13i1.911.
9. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям». [Order of the Ministry of Public Health RF dated March 21, 2014 № 125n «Ob utverzhdenii natsional'nogo kalendarya profilakticheskikh privivok i kalendarya profilakticheskikh privivok po epidemicheskim pokazaniyam». (In Russ).]
10. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Маянский Н.А., и др. Роль *Streptococcus pneumoniae* в структуре бактериальных инфекций у детей, госпитализированных в стационары г. Москвы в 2011–2012 гг. // *Педиатрическая фармакология*. — 2013. — Т. 10. — № 5 — С. 6–12. [Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Mayanskiy NA, et al. Role of *Streptococcus pneumoniae* in the structure of bacterial infections in the children hospitalized to inpatient hospitals in Moscow in 2011–2012. *Pediatric pharmacology*. 2013;10(5):6–12. (In Russ).] doi: 10.15690/pf.v10i5.816.
11. Белошицкий Г.В., Королева И.С., Королева М.А. Серотиповой пейзаж пневмококков, выделенных при пневмококковом менингите, в Российской Федерации // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. — 2015. — Т. 14. — № 2 — С. 19–25. [Beloshitsky GV, Koroleva IS, Koroleva MA. Landscape of serotypes pneumococcus isolate with pneumococcal meningitis in the Russian Federation. *Epidemiol Vakcinoprofil*. 2015;14(2):19–25. (In Russ).]

12. Калиногорская О.С., Беланов С.С., Волкова М.О., и др. Антибиотикорезистентность и серотиповый состав *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у детей в Санкт-Петербурге в 2010–2013 гг. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2015. — Т. 60. — № 1–2 — С. 10–18. [Kalinogorskaya OS, Belanov SS, Volkova MO, et al. Antibiotic resistance and serotype pattern of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children in St. Petersburg in 2010–2013. *Antibiotics and chemotherapy*. 2015;60(1–2):10–18. (In Russ).]
13. Козлов Р.С., Чагарян А.Н., Козлова Л.В., Муравьев А.А. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. — 2011. — Т. 13. — № 2 — С. 177–187. [Kozlov RS, Chagaryan AN, Kozlova LV, Muraviev AA. Serological characteristics and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children 0–5 years of age in different regions of Russia. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2011;13(2):177–187. (In Russ).]
14. Холодок Г.Н. Микробиологические и патогенетические аспекты внебольничной пневмонии у детей: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М.; 2012. — 41 с. [Kholodok GN. *Mikrobiologicheskie i patogeneticheskie aspekty vnebol'nicnoi pnevmonii u detei*. [dissertation abstract] Moscow; 2012. 41 p. (In Russ).]
15. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И., и др. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999–2009 гг. (результаты многоцентрового проспективного исследования ПЕГАС) // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. — 2010. — Т. 12. — № 4 — С. 329–341. [Kozlov RS, Sivaya OV, Krechikova OI, et al. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Russia over the 1999–2009: results of multicenter prospective study PEHASus. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2010;12(4):329–341. (In Russ).]
16. Mayanskiy N, Alyabieva N, Ponomarenko O, et al. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. *Int J Infect Dis*. 2014;20:58–62. doi: 10.1016/j.ijid.2013.11.005.
17. Протасова И.Н., Перьянова О.В., Бахарева Н.В., и др. Чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей города Красноярск // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. — 2014. — Т. 16. — № 2 — С. 144–148. [Protasova IN, Per'yanova OV, Bakhareva NV, et al. Antimicrobial susceptibility of pediatric *Streptococcus pneumoniae* isolates in Krasnoyarsk. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2014;16(2):144–148. (In Russ).]
18. Алябьева Н.М. Серотипы и устойчивость к антибиотикам штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у детей при респираторных инфекциях: Дис... канд. мед. наук. — М.; 2014. — 98 с. [Alyab'eva NM. *Serotipy i ustoychivost' k antibiotikam shtamov Streptococcus pneumoniae, vydelennykh u detei pri respiratornykh infektsiyakh*. [dissertation] Moscow; 2014. 98 p. (In Russ).]
19. Алябьева Н.М., Блинова Т.А., Пономаренко О.А., и др. Молекулярное типирование *Streptococcus pneumoniae* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с учетом распространенности серотипов в Российской Федерации // *Вопросы современной педиатрии*. — 2013. — Т. 12. — № 6 — С. 30–34. [Alyab'eva NM, Blinova TA, Ponomarenko OA, et al. Molecular typing of *Streptococcus pneumoniae* by the multiplex polymerase chain reaction assay in accordance to the prevalence of serotypes in the Russian Federation. *Current pediatrics*. 2013;12(6):30–34. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v12i6.871.
20. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации. [Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam. *Klinicheskie rekomendatsii*. (In Russ).] Доступно по: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>. Ссылка активна на 22.09.2017.
21. eucast.org [Internet]. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016 [cited 2017 Sep 9]. Available from: <http://www.eucast.org>.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 26th ed. Wayne, PA: CLSI; 2016.
23. Reinert RR, Filimonova OY, Al-Lahham A, et al. Mechanisms of macrolide resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolates from Russia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(6):2260–2262. doi: 10.1128/AAC.01270-07.
24. Протасова И.Н., Бахарева Н.В., Перьянова О.В., и др. Смена серотипов *Streptococcus pneumoniae* у детей, вакцинированных 7-валентной конъюгированной вакциной // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. — 2014. — № 5 — С. 67–71. [Protasova IN, Bakhareva NV, Peryanova OV, et al. Changing *Streptococcus Pneumoniae* serotypes in children vaccinated with 7-valent conjugate vaccine. *Epidemiol Vakcinoprofil*. 2014;(5):67–71. (In Russ).]
25. Porat N, Benisty R, Givon-Lavi N, et al. The impact of pneumococcal conjugate vaccines on carriage of and disease caused by *Streptococcus pneumoniae* serotypes 6C and 6D in southern Israel. *Vaccine*. 2016;34(25):2806–2812. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.04.043.
26. Devine VT, Cleary DW, Jefferies JM, et al. The rise and fall of pneumococcal serotypes carried in the PCV era. *Vaccine*. 2017;35(9):1293–1298. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.01.035.
27. Pilishvili T, Bennett NM. Pneumococcal disease prevention among adults: strategies for the use of pneumococcal vaccines. *Am J Prev Med*. 2015;49(6 Suppl 4):S383–390. doi: 10.1016/j.amepre.2015.09.008.
28. Protasova IN, Wan TW, Bakhareva NV, et al. Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae*, particularly serotype 19A/ST320, that emerged in Krasnoyarsk, Russia. *Microbiol Immunol*. 2017;61(9):359–370. doi: 10.1111/1348-0421.12503.
29. Biedenbach DJ, Badal RE, Huang MY, et al. In vitro activity of oral antimicrobial agents against pathogens associated with community-acquired upper respiratory tract and urinary tract infections: a five country surveillance study. *Infect Dis Ther*. 2016;5(2):139–153. doi: 10.1007/s40121-016-0112-3.
30. Грудинина С.А., Сидоренко С.В., Федорчук В.В., и др. Динамика распространения антибиотикорезистентности среди *Streptococcus pneumoniae* в Москве в период с 1998 по 2003 гг. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2004. — Т. 49. — № 4 — С. 25–34. [Grudinina SA, Sidorenko SV, Fedorchuk VV, et al. Dynamics of *Streptococcus pneumoniae* antibiotic resistance emergence in Moscow in 1998–2003. *Antibiotics and chemotherapy*. 2004;49(4):25–34. (In Russ).]
31. Hakenbeck R, Bruckner R, Denapate D, Maurer P. Molecular mechanisms of β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Future Microbiol*. 2012;7(3):395–410. doi: 10.2217/fmb.12.2.
32. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis*. 2002;34(4):482–492. doi: 10.1086/324626.
33. Leclercq R, Canton R, Brown DF, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(2):141–160. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x.
34. Hu F, Zhu D, Wang F, et al. Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2009–11 and 2013–14 in China. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71 Suppl 1:i33–43. doi: 10.1093/jac/dkw065.
35. Tomic V, Dowzicky MJ. Regional and global antimicrobial susceptibility among isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) from 2009 to 2012 and comparison with previous years of T.E.S.T. (2004–2008). *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13:52. doi: 10.1186/s12941-014-0052-2.
36. Janoir C, Lepoutre A, Gutmann L, Varon E. Insight into resistance phenotypes of emergent non 13-valent pneumococcal conjugate vaccine type pneumococci isolated from invasive disease after 13-valent pneumococcal conjugate vaccine implementation in France. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3(1):ofw020. doi: 10.1093/ofid/ofw020.
37. Simell B, Auranen K, Kayhty H, et al. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. *Expert Rev Vaccines*. 2012;11(7):841–855. doi: 10.1586/erv.12.53.
38. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization—WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec*. 2007;82(12):93–104.