

И.С. Королева, Г.В. Белошицкий, К.О. Миронов

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

# Серотиповая характеристика пневмококков, выделенных от больных пневмококковым менингитом

## Contacts:

*Irina Koroleva*, Doctor of Medical Science, professor, head of the laboratory Federal Budgetary Institution of Science "Central Scientific Research Institute of Epidemiology" of the Federal Service for Supervision of Natural Resource Usage

**Address:** Novogireyevskaya St., 3A, Moscow, 111123, **Tel.:** (495) 672-11-28, **e-mail:** irina-korol@yandex.ru

**Article received:** 11.07.2012, **Accepted for publication:** 03.08.2012

Согласно данным экспертов Всемирной организации здравоохранения, от пневмококковой инфекции в мире ежегодно умирает 1,6 млн человек, из которых более 700 тыс. — дети первых 5 лет жизни. Пневмококковый менингит остается одним из самых тяжелых проявлений пневмококковой инфекции, занимая одно из ведущих мест в этиологической структуре бактериальных менингитов. Распространение серотипов инвазивных пневмококков у детей раннего возраста в Российской Федерации недостаточно хорошо изучено. Целью данной работы было исследование серотипового пейзажа пневмококков, выделенных от больных пневмококковым менингитом, в возрастной категории детей до 7 лет за период 1981–2010 гг. в г. Москве. В исследование включено 35 штаммов возбудителя. Проведен скрининг чувствительности штаммов к пенициллину и молекулярно-генетическое типирование методом мультилокусного секвенирования-типирования. Наиболее распространенными серотипами, вызывающими пневмококковые менингиты у детей в возрасте 0–7 лет, оказались 19F, 7F, 14 и 1. Большинство полирезистентных штаммов изолированы от больных в период 2007–2009 гг. Среди культур с повышенной устойчивостью к антибактериальным препаратам и полирезистентными свойствами выявлены штаммы с новым аллельным профилем, не зарегистрированным в международной базе данных [www.spneumoniae.mlst.net](http://www.spneumoniae.mlst.net).

**Ключевые слова:** дети, пневмококковая инфекция, серотиповая характеристика пневмококков, пневмококковый менингит.

## ВВЕДЕНИЕ

*Streptococcus pneumoniae* является этиологическим фактором развития значительного числа инфекционных заболеваний, которые включают в себя как инвазивные жизнеугрожающие инфекции (сепсис, менингит, пневмония), так и неинвазивные, с относительно легким течением (средний отит, синусит). Согласно данным экспертов Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире от пневмококковой инфекции умирает 1,6 млн человек, из которых более 700 тыс. — это дети

первых 5 лет жизни. В Европе и США показатель заболеваемости инвазивными пневмококковыми заболеваниями составляет от 10 до 100 случаев на 100 тыс. населения [1]. Пневмококковый менингит остается одним из самых тяжелых вариантов течения пневмококковой инфекции, занимая одно из ведущих мест в этиологической структуре бактериальных менингитов. Его доля среди всех гнойных бактериальных менингитов составляет 20–25% в странах Западной Европы [2] и 30–45% в США и Канаде [3]. Показатель заболеваемости пнев-

I.S. Koroleva, G.V. Beloshitsky, K.O. Mironov

Rosпотребнадзор Central Scientific Research Institute of Epidemiology, Moscow

## Serotype characteristic of pneumococci isolated from patients with pneumococcal meningitis

As it was reported by World Health Organization, the annual number of deaths caused by pneumococci reaches 1.6 million people including 700 thousand of children of 0–5 years old. Pneumococcal meningitis is one of the most severe manifestations of pneumococcal infection. *S. pneumoniae* keeps one of the leading positions in aetiological structure of bacterial meningitis. Data on serotypes distribution of pneumococci in children of the early age in the Russian Federation are limited. In this study serotypes of pneumococci from pediatric patients with pneumococcal meningitis (children aged 0–7 years,  $n = 35$ ) isolated in 1981–2010 in Moscow were identified. Screening for sensitivity of strains to penicillin was performed, as well as molecular typing by MLST approach. The most frequent serotypes causing pneumococcal meningitis in children aged 0–7 years were 19F, 7F, 14 and 1. Most of MDR-strains were collected in 2007–2009. Among MDR-strains and those demonstrating increased resistance to antibiotics, several new allelic patterns were described.

**Key words:** children, pneumococcal infection, serotype characteristic of pneumococci isolated pneumococcal meningitis.

мококковым менингитом в странах Европейского союза колеблется в диапазоне 0,6–0,12 на 100 тыс. населения, а среди детей до 2 лет — 3,0–16,1 на 100 тыс. детей [4, 5]. Летальность при пневмококковом менингите составляет 15–20% [3], а осложнения после перенесенного заболевания отмечаются более чем у 30% детей [6].

Для защиты детей раннего возраста от пневмококковой инфекции разработан ряд вакцинных препаратов, включающих в себя клинически значимые серотипы пневмококков. Первым таким препаратом была 14-валентная полисахаридная вакцина, которую начали применять с 1977 г. Далее, в 1983 г., в практику была внедрена 23-валентная полисахаридная вакцина, в состав которой вошли очищенные капсульные полисахариды (1, 2, 3, 4, 5, 6В, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15В, 17F, 18С, 19А, 19F, 20, 22F, 23F и 33F). К основным недостаткам этой вакцины относят низкую иммуногенность у детей до 2 лет — наиболее уязвимого контингента, а также неспособность индуцировать иммунологическую память, поскольку полисахариды относятся к Т-независимым антигенам. Указанных недостатков удалось избежать при создании 7-валентной вакцины, включающей капсульные полисахариды серотипов 4, 6В, 9V, 14, 19F и 23F, а также олигосахарид серотипа 18С, конъюгированные с белком CRM197 нетоксигенных коринебактерий дифтерии.

Благодаря конъюгированию полисахаридов с белком вакцина индуцирует Т-зависимый иммунный ответ, иммунологическую память и протективный иммунитет даже у новорожденных [7]. В настоящее время состав 7-валентной вакцины расширен, и сконструирована 13-валентная конъюгированная пневмококковая вакцина, дополнительно содержащая полисахариды серотипов 1, 3, 5, 6А, 7F и 19А. Важное место в списке активно применяемых вакцин занимает 10-валентная вакцина с полисахаридами серотипов 1, 5, 6В, 7F, 9V, 14, 23F, 4, 18С, 19F, конъюгированными с D-протеином нетипируемой *Haemophilus influenzae*, а также столбнячным и дифтерийным токсинами. Оценка перспективы развития вакцинопрофилактики пневмококковых инфекций, следует подчеркнуть необходимость налаживания системы наблюдения за распространенностью пневмококковых инфекций и динамикой серотипового состава пневмококков, что позволит своевременно менять состав вакцинных препаратов [8, 9].

В России, по данным российского референс-центра, проводящего мониторинг бактериальных менингитов, в этиологической структуре возбудителей данной патологии пневмококковые менингиты у детей в возрасте от 0 до 6 лет занимают 3-е место (10–12%), уступая только менингитам менингококковой этиологии (40–45%) и гемофильным менингитам типа b (35–40%). В 2010 г. общая заболеваемость пневмококковыми менингитами в указанной возрастной группе по стране составила 0,53 на 100 тыс. детей, в т.ч. у детей до года — 1,16 на 100 тыс., от 1 до 2 лет — 0,76 на 100 тыс., от 3 до 6 лет — 0,22 на 100 тыс. детей соответствующего возраста. Летальность в группе детей от 0 до 6 лет определялась на уровне 12%, с наибольшим показателем летальности среди детей от 0 до 1 года включительно (18,5%) [10]. Заболеваемость пневмококковыми менингитами среди детей в г. Москве была несколько выше, чем в целом по стране. Так, средний показатель заболеваемости среди детей в возрасте до 1 года за период 2006–2010 гг. составил 1,86 на 100 тыс., среди детей

в возрасте 1–2 лет — 0,88 среди детей 3–6 лет — 0,56 на 100 тыс. Средний показатель смертности среди детей в возрасте до 1 года составил 0,42 на 100 тыс., среди детей 1–2 года — 0,22 на 100 тыс., для детей 3–6 лет — 0,19 на 100 тыс. детского населения [11].

Распространение серотипов инвазивных пневмококков у детей раннего возраста в целом по стране изучено недостаточно. По данным НИИ детских инфекций г. Санкт-Петербурга, от детей 1–3-го года жизни с диагнозом «Пневмококковый менингит» чаще выделяли пневмококки серогруппы/серотипа 6, 9, 14, тогда как у детей старше 3 лет с диагнозом «Внебольничная пневмония» преобладали пневмококки серогруппы/серотипа 1, 3, 6, 19, 23 [12]. При исследовании распространенности носительства пневмококков среди детей в детских садах и домах ребенка по программе ПеГАС I и II в 11 городах Российской Федерации было установлено, что среди носительских штаммов ведущее место занимали пневмококки, относящиеся к серогруппам 23, 19 и 6, которые часто ассоциировались с антибиотикоустойчивостью [13]. Среди пневмококков, выделенных от больных пневмококковыми менингитами в г. Москве за период 1980–1991 гг. преобладали пневмококки серогруппы/серотипа 1, 3, 19, 6, 2. При исследованиях за период 2000–2007 гг. также установили доминирующую роль серогрупп/серотипов 3, 19, 6 [14].

#### Цель исследования:

- определить серотиповой пейзаж пневмококков, выделенных от больных пневмококковыми менингитами в возрастной категории детей до 7 лет в г. Москве за период 1981–2010 гг.;
- провести скрининг чувствительности штаммов пневмококков к пенициллину;
- выполнить генетическое типирование резистентных к пенициллину пневмококков методом мультилокусного секвенирования-типирования.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Было исследовано 35 штаммов, выделенных из ликвора (34 штамма) или крови (1 штамм) 35 детей в возрасте до 7 лет, проживающих на территории Москвы. Во всех случаях констатирован диагноз «Гнойный бактериальный менингит пневмококковой этиологии». Пневмококки, изолированные за период 1981–1990 гг. (19 штаммов), хранились в ампулах в лиофилизированном состоянии, а культуры, выделенные за период 1995–2010 гг. (16 штаммов), — в условиях глубокой заморозки (при  $-70^{\circ}\text{C}$  в триптиказо-соевом бульоне с 15% глицерином).

Высев и идентификацию исследуемых культур выполняли по стандартным бактериологическим методикам: микроскопия, характер роста на кровяном и шоколадном агаре, тест с оптохином (BioMerieux, Франция), тест с желчью (НИЦФ, Санкт-Петербург).

Серотипирование проводили при помощи набора «Pneumotest-latex kit», включающего 14 пуловых сывороток, что позволяло определить серогруппы/серотипы 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 33, и набора факторных сывороток для дальнейшей дифференциации серогрупп: 6 (b, c, d), 7 (b, c, e, f, h), 9 (b, d, e, g), 12 (b, c, e), 18 (c, d, e, f), 19 (b, c, f), 23 (b, c, d) производства «Statens Serum Institut» (Дания) согласно инструкции производителя. Кроме того, дополнительно использовали антипневмококковые сыворотки, входящие в пул D (16, 36, 37) и пул G (29, 34, 35, 42, 47).

**Таблица 1.** Серотиповой пейзаж штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от детей в возрасте 0–7 лет в г. Москве

Серотип	Абс. число штаммов	% Отношение	Год изоляции культуры
1	3	8,6	1988, 2001, 2004
2	2	5,7	1988, 1988
3	2	5,7	1987, 2004
6A	1	2,9	2008
6B	2	5,7	2009, 2010
7F	4	11,4	1995, 1996, 2008, 2010
9V	2	5,7	1990, 2009
12F	2	5,7	1981, 1981
14	3	8,6	1989, 2004, 2009
18C	2	5,7	1981, 1988
19A	1	2,9	1990
19F	6	17,1	1986, 1987, 1988, 1989, 2001, 2007
23F	1	2,9	1981
Серогруппа 16*	1	2,9	2003
33	1	2,9	1989
34	1	2,9	1981
NT	1	2,9	1987
Всего:	35	100	1981–2010

Примечание. \* — серотип не определен; NT — штамм не типифицируется.

Скрининговое исследование штаммов пневмококков на определение устойчивости к пенициллину осуществляли диско-диффузионным методом с применением дисков оксациллина (BioMerieux, Франция). В случае обнаружения культур, устойчивых к оксациллину (зона задержки роста — менее 20 мм), дальнейшее изучение штамма проводили с использованием тест-системы «ATB STREP 5 ref 14355» (BioMerieux, Франция) согласно инструкции производителя.

Штаммы, обладающие повышенной устойчивостью к пенициллину, дополнительно подвергли мультилокусному секвенированию-типированию по стандартной методике для выявления принадлежности к международным эпидемическим клонам, описанной M. C. Enright и B. G. Spratt (1998). Принцип метода основан на амплификации с помощью полимеразной цепной реакции и последующем секвенировании внутренних фрагментов 7 *house keeping*-генов хромосомной ДНК: *aroE* (шикиматдегидрогеназа), *gdh* (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), *gki* (глюкокиназа), *recP* (транскетолаза), *spi* (сигнальная пептидаза I), *xpt* (ксантинфосфорибозилтрансфераза), *ddl* (*D*-аланин-*D*-аланин лигаза) [15].

Статистическая обработка материала подразумевала определение процентной доли серогрупп/серотипов в исследуемой выборке.

Исследование проведено при поддержке компании «ГлаксосмитКляйн».

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты серотипирования пневмококков представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 указывают на значительное разнообразие серотипового пейзажа пневмококков: среди 35 исследованных штаммов обнаружено 16 различных серотипов. Ведущими серотипами оказались 19F (17,1%), 7F (11,4%), 14 и 1 (по 8,6%), на долю которых приходится 45,7% всех исследованных штаммов. Серотипы 2, 3, 6B, 9V, 12F и 18C встречались менее часто (совокупная доля — 34,2%), остальные представлены единичными случаями. Распределение серотипов пневмококков в зависимости от возраста пациентов приведено в табл. 2.

У пациентов в возрасте 2 лет наиболее часто встречались пневмококки серотипа 19F (4 из 9 штаммов — 44%), а в возрасте 1 года — серотипа 7F (2 из 5 штаммов — 40%). В остальных возрастных группах преобладания какого-либо одного конкретного серотипа не обнаружено.

При проведении скрининга штаммов пневмококков на чувствительность к оксациллину было выделено 8 штаммов (22,8% от общего числа культур) с повышенной устойчивостью к пенициллину (МПК > 0,06 мг/л). Эти штаммы принадлежали к серотипам 19F, 23F, 14, 9V, 7F, 6A, 6B. Спектр антибиотикочувствительности указанных штаммов, полученный с использованием тест-системы «ATB STREP 5» представлен в табл. 3.

**Таблица 2.** Распределение серотипов пневмококков в зависимости от возраста пациентов

Возраст	Мес								Год			
	1	2	3	4	5	6	9	11	1	2	5	6
Число штаммов	1	4	2	5	1	3	2	1	5	9	1	1
Серотип	7F	7F 18C 2 33	2 9V	19F 23F NT 6B 9V	12F	1 14 6B	12F 19A	34	19F 7F 7F 1 3	19F 19F 19F 6A 1 14 18C 16*	14	3

Примечание. \* — серотип не определен; NT — штамм не типифицируется.

**Таблица 3.** Антибиотикочувствительность штаммов пневмококков к различным препаратам

Год	Номер штамма	Серотип	Антибактериальный препарат, мг/л								
			<i>PEN</i>	<i>CTX</i>	<i>ERY</i>	<i>CLI</i>	<i>TET</i>	<i>LVX</i>	<i>CMP</i>	<i>VAN</i>	<i>TSU</i>
1981	626/81	23F	> 0,13 < 0,25	< 0,5	< 0,25	< 0,25	> 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38
1987	63/87	19F	> 1 < 2	> 0,5 < 1	> 0,25	< 0,25	> 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38
1988	96/88	19F	> 0,25 < 0,5	< 0,5	> 0,25	< 0,25	< 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38
2008	816/08	6A	> 0,5 < 1	< 0,5	> 0,25	> 0,25	> 2	< 2	< 4	< 1	> 2/38
2008	823/08	7F	> 0,06 < 0,12	< 0,5	< 0,25	< 0,25	< 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38
2009	1019/09	14	> 1 < 2	> 1 < 2	> 0,25	> 0,25	> 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38
2009	1020/09	6B	> 1 < 2	> 1 < 2	> 0,25	> 0,25	> 2	< 2	> 4	< 1	> 2/38
2009	1022/09	9V	> 0,25 < 0,5	< 0,5	> 0,25	< 0,25	< 2	< 2	< 4	< 1	< 2/38

Примечание. *PEN* — пенициллин; *CTX* — цефотаксим; *ERY* — эритромицин; *CLI* — клиндамицин; *TET* — тетрациклин; *CMP* — хлорамфеникол; *VAN* — ванкомицин; *TSU* — ко-тримоксазол.

**Таблица 4.** Результаты генетического определения типовой принадлежности пневмококков методом мультилокусного секвенирования-типирования

Год	Номер штамма	<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>	ST
1981	626/81	7	13	2	6	10	6	14	NEW1
1987	63/87	7	13	8	6	6	6	99	663
1988	96/88	15	16	19	15	6	20	19	925
2008	816/08	2	13	9	16	6	1	62	675
2008	823/08	9	9	2	1	6	1	17	191
2009	1019/09	7	5	10	18	6	1	1	NEW2
2009	1020/09	2	6	1	2	6	1	28	NEW3
2009	1022/09	7	8	8	4	6	28	14	NEW4

Примечание. *aroE* — шикиматдегидрогеназа; *gdh* — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; *gki* — глюкокиназа; *recP* — транскетотлаза; *spi* — сигнальная пептидаза I; *xpt* — ксантинфосфорибозилтрансфераза; *ddl* — D-аланин-D-аланин лигаза; ST — сиквенс-тип; NEW — новый сиквенс-тип, не зарегистрированный в Интернет-базе [www.mlst.net](http://www.mlst.net)

Как следует из табл. 3, резистентных к пенициллину культур (минимальная подавляющая концентрация, МПК, > 2 мг/л) обнаружено не было. Из 8 штаммов с повышенной устойчивостью к пенициллину 5 (62,5%) изолированы от больных за период 2008–2009 гг. Эти культуры характеризовались более высокой резистентностью к антимикробным препаратам, чем штаммы 80-х гг.

Наибольшая устойчивость к пенициллину в диапазоне 1 < МПК < 2 мг/л отмечена у культур, относящихся к серотипам 19F, 14, 6B и обладающих полирезистентными свойствами. Эти штаммы оказались промежуточно устойчивы к цефалоспорином (цефотаксим, 0,5 < МПК < 1 мг/л), резистентны к макролидам (эритромицин, МПК > 0,25 мг/л), 15-членным макролидам и линкоза-

мидам (клиндамицин, МПК > 0,25 мг/л) и тетрациклином (тетрациклин, МПК > 2 мг/л). Культура с повышенной устойчивостью к пенициллину в диапазоне 0,5 < МПК < 1 мг/л и принадлежащая серотипу 6A, не демонстрировала устойчивости к другим β-лактамам антибиотикам (цефалоспорином), но оказалась устойчива к тетрациклину, макролидам и линкозамидам. Другие штаммы с небольшой промежуточной устойчивостью к пенициллину, как правило, были резистентны только к тетрациклину и макролидам при сохранении чувствительности к другим препаратам. Все штаммы пневмококков с повышенной устойчивостью к пенициллину были подвергнуты генетическому типированию методом мультилокусного секвенирования-типирования (табл. 4).

Среди штаммов с повышенной устойчивостью к пенициллину отмечалось значительное генетическое разнообразие, половина культур имела новый аллельный профиль, описание которого отсутствовало в международной базе данных [www.spneumoniae.mlst.net](http://www.spneumoniae.mlst.net). Наиболее выраженными полирезистентными свойствами обладали штаммы серотипов 6В и 14, принадлежащие к вновь выявленным аллельным профилям NEW3 (2, 6, 1, 2, 6, 1, 28) и NEW2 (7, 5, 10, 18, 6, 1, 1), которые демонстрировали большую устойчивость к пенициллину, цефотаксиму, эритромицину, клиндамицину, тетрациклину, чем полирезистентные штаммы, относящиеся к известным сиквенс-типам. Два других штамма с новым аллельным профилем NEW1 (7, 13, 2, 6, 10, 6, 14) и NEW4 (7, 8, 8, 4, 6, 28, 14), относящихся к серотипам 23F и 9V, были промежуточно устойчивы к пенициллину при сохранении чувствительности к основным антимикробным препаратам.

Штаммы, устойчивые к пенициллину и принадлежащие к зарегистрированным сиквенс-типам, характеризовались следующими свойствами (по данным международной базы [www.spneumoniae.mlst.net](http://www.spneumoniae.mlst.net)):

- **ST 663** выделяли в США и Германии при пневмонии в 1999 г. Культуры имели высокий уровень устойчивости к пенициллину (МПК — от 4 до 8 мг/л), эритромицину (МПК — от 16 до 32 мг/л), тетрациклину (МПК — 32 мг/л). Штамм, выделенный в Москве, был менее агрессивен, демонстрируя промежуточную устойчивость к пенициллину ( $1 < \text{МПК} < 2$  мг/л) и цефотаксиму ( $0,5 < \text{МПК} < 1$  мг/л), устойчивость к эритромицину (МПК  $> 0,25$  мг/л), при этом оставаясь чувствительным к клиндамицину (МПК  $< 0,25$  мг/л), однако устойчивым к тетрациклину (МПК  $> 2$  мг/л).
- **ST 925** определяли в Гамбии от назофарингеальных носителей в 2004 г. Как правило, все штаммы были чувствительны к пенициллину, эритромицину, но устойчивы к тетрациклину. Выделенный московский штамм обладает особенностью — слабой промежуточной устойчивостью к пенициллину

( $0,25 < \text{МПК} < 0,5$  мг/л) при наличии устойчивости к эритромицину (МПК  $> 0,25$  мг/л) и чувствительности к тетрациклину (МПК  $< 2$  мг/л).

- **ST 675** был изолирован в Италии и Польше в 1998, 2002, 2005 гг. при пневмококковом менингите и пневмонии. Штаммы обладали промежуточной устойчивостью к пенициллину ( $0,5 < \text{МПК} < 1$  мг/л), значительной резистентностью к эритромицину ( $16 < \text{МПК} < 256$  мг/л) и тетрациклину (МПК — 8 мг/л). Штамм, выделенный в Москве, имеет сходные свойства: он промежуточно устойчив к пенициллину ( $0,5 < \text{МПК} < 1$  мг/л), резистентен к эритромицину (МПК  $> 0,25$  мг/л) и клиндамицину (МПК  $> 0,25$  мг/л), устойчив к тетрациклину (МПК  $> 2$  мг/л).
- **ST 191** имеет значительное распространение в Европейских странах, является референсным штаммом глобального клона Netherland 7F-39. Обычные штаммы, принадлежащие данному клону, чувствительны к пенициллину, макролидам, тетрациклину, хлорамфениколу. Российский штамм обладает небольшой промежуточной устойчивостью к пенициллину ( $0,06 < \text{МПК} < 0,123$ ) при сохранении чувствительности к другим препаратам.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено значительное серотиповое разнообразие штаммов пневмококков. Наиболее распространенные серотипы, вызывающие пневмококковые менингиты у детей в возрасте от 0 до 7 лет, — 19F, 7F, 14 и 1.

Большинство штаммов с установленными полирезистентными свойствами изолированы от больных пневмококковыми менингитами за период 2008–2009 гг.

Среди культур с повышенной устойчивостью к антибактериальным препаратам обнаружены штаммы с новым аллельным профилем, не зарегистрированным в международной базе данных [www.spneumoniae.mlst.net](http://www.spneumoniae.mlst.net).

## REFERENCES

1. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization — WHO position paper. *WHO*. 2007; 12 (82): 93–104.
2. Sigurdardottir B., Bjornsson O. M. et al. Acute bacterial meningitis in adults. A 20-year overview. *Arch. Intern. Med.* 1997; 157: 425–429.
3. Schuchat A., Robinson K., Wenger J. D. et al. Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 970–976.
4. McIntosh E. D. G., Fritzell B., Fletcher M. A. Burden of paediatric invasive pneumococcal disease in Europe, 2005. *Epidemiology and Infection*. 2007; 135 (4): 644–656.
5. Hausdorff W. P., Bryant J., Paradiso P. R., Siber G. R. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin. Infect. Diseases*. 2000; 30 (1): 100–121.
6. Quagliarello V. J., Scheld W. M. Treatment of bacterial meningitis. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336 (10): 708–716.
7. Baranov A. A., Omel'yanovskiy V. V., Briko N. I. and others. *Pediatricheeskaja farmakologija — Pediatric pharmacology*. 2009; 6 (6): 6–10.
8. Hsu H. E., Shutt K. A., Moore M. R. Effect of pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360 (3): 244–256.
9. Grijalva C. G., Nuorti J. P., Arbogast P. G. Decline in pneumonia admissions after routine childhood immunization with pneumococcal conjugate vaccine in the USA: a time-series analysis. *Lancet*. 2007; 369 (9568): 1179–1186.
10. Koroleva I. S., Beloshitskiy G. V. *Aktual'nyye voprosy — Current Items*. 2012; 1: 18–21.

11. Beloshitskiy G.V., Koroleva I.S., Safonov A.V. *Epidemiologiya i gigiyena* — *Epidemiology and Hygiene*. 2012; 1: 28–30.
12. Sorokina M.N. *Vaktsinatsiya* — *Vaccinization*. 1999; 2: 15–17.
13. Kozlov R.S. and others. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija* — *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2006; 8 (1): 33–47.
14. Beloshitskiy G.V., Koroleva I.S., Koshkina N.I. *Epidemiologiya i vaktsinoproflaktika* — *Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2009; 2 (45): 21–26.
15. Enright M., Spratt B.G. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology*. 1998; 144: 3049–3060.