Этиологическая роль и молекулярно-генетические особенности *Streptococcus pneumoniae* при инфекционных заболеваниях у детей

И. Н. Протасова[1], Г. П. Мартынова[1], Н. А. Ильенкова[1], И. А. Кутищева[1], С. В. Домрачева[2], О. П. Овчинникова[3], Е. С. Соколовская[1]

[1] ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия
[2] КГБУЗ «Красноярская межрайонная детская больница №4», Красноярск, Россия
[3] КГБУЗ «Красноярская межрайонная детская клиническая больница №1», Красноярск, Россия

Цель: выявление этиологической роли, исследования серотипового пейзажа и определения преобладающих генотипов (сиквенс-типов) *Streptococcus pneumoniae* у 459 детей, госпитализированных по поводу острого гнойного среднего отита, острого тонзиллита, внебольничной пневмонии, гнойного бактериального менингита.
Материалы и методы: Использовался культуральный (бактериологический) метод, молекулярные методы (ПЦР, секвенирование). Статистическая обработка проводилась с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.0.
Результаты: *S. pneumoniae* был выявлен в 16,8% случаев. Преобладали серотипы 19F (39,7%) и 19A (13,2%), относящиеся к мультирезистентному клональному комплексу 320. С меньшей частотой (8,82%) встречались пневмококки 6 серогруппы (6AB) — представители клонального комплекса 315, характеризующиеся устойчивостью к макролидам, клиндамицину и тетрациклину. Соответствие выявленных серотипов антигенному составу пневмококковых вакцин составило от 70,6% до 88,2%.
Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, пневмококк, этиологическая роль, серотипы у детей, сиквенс-типы, резистентность

Etiological role and molecular-genetic features of *Streptococcus pneumoniae* in children's infectious diseases

I. N. Protasova[1], G. P. Martynova[1], N. A. Ilyenkova[1], I. A. Kutischeva, S. V. Domracheva[2], O. P. Ovchinnikova[3], E. S. Sokolovskaya[1]

[1] Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russia
[2] Krasnoyarsk Interregional Children's Hospital №4, Russia
[3] Krasnoyarsk Interregional Children's Clinical Hospital №1, Russia

Objective: To study the etiological role, serotype distribution and prevalent *Streptococcus pneumoniae* genotypes (sequence types) in 459 children hospitalized with acute purulent otitis media, acute tonsillitis, community-acquired pneumonia, and purulent bacterial meningitis. Pneumococcal cultures isolated from patients were tested for sensitivity to antimicrobials, and presence of resistance genes.
Materials and Methods: The cultural and molecular methods (PCR, sequencing) were used. Statistical analysis was carried out using Microsoft Excel 2007 and Statistica 6.0.
Results: *S. pneumoniae* was detected in 16,8%. The prevalent serotypes were 19F (39.7%) and 19A (13.2%) — representatives of multidrug-resistant clonal complex 320. Isolates of serogroup 6 (6AB, 8.82%) belonged to clonal complex 315, and characterized by resistance to macrolides, clindamycin and tetracycline. From 70.6% to 88.2% of *S. pneumoniae* serotypes isolated from patients corresponded to «vaccine»-types.
Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococcus, etiological role, serotypes in children, sequence-types, resistance

Для цитирования: И. Н. Протасова, Г. П. Мартынова, Н. А. Ильенкова, И. А. Кутищева, С. В. Домрачева, О. П. Овчинникова, Е. С. Соколовская. Этиологическая роль и молекулярно-генетические особенности *Streptococcus pneumoniae* при инфекционных заболеваниях у детей. Детские инфекции. - 2020; 19(1):7-12
doi.org/10.22627/2072-8107-2020-19-1-7-12

For citation: I. N. Protasova, G. P. Martynova, N. A. Ilyenkova, I. A. Kutischeva, S. V. Domracheva, O. P. Ovchinnikova, E. S. Sokolovskaya. Etiological role and - molecular-genetic features of *Streptococcus pneumoniae* in children's infectious diseases. *Detskie Infektsii=Children's Infections.* 2020; 19(1):7-12
doi.org/10.22627/2072-8107-2020-19-1-7-12

Контактная информация: Ирина Николаевна Протасова (Irina N. Protasova), к.м.н., доцент кафедры микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; Российская Федерация, г. Красноярск; PhD, Associate Professor of Microbiology Department, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Russian Federation; ovsyanka802@gmai.com; http://orcid.org/0000-0001-6521-8615

Пневмококковые инфекции (ПИ) у детей являются актуальной проблемой здравоохранения, а вызываемые *Streptococcus pneumoniae* инвазивные формы заболеваний отличаются тяжестью, высоким уровнем инвалидизации и смертности [1—5]. Заболеваемость ПИ различается в зависимости от географического положения региона и уровня специфической профилактики [1, 4—6].

В Российской Федерации среди детей 0—14 лет показатели заболеваемости острым средним отитом и пневмонией высоки, и составляют 2612,6 и 959,1 на 100 000 соответственно [3]; доля пневмококкового менингита в структуре бактериальных менингитов составляет 28,4% [4]. Актуальной остается проблема устойчивости пневмококков к антибактериальным препаратам. По некоторым данным, уровень резистентности *S. pneumoniae* к макролидам в РФ достигает 30—40%, а сниженная чувствительность к пенициллину встречается с частотой до 48% [1]. Необходимо отметить, что антибиотикорезистентность пневмококков как правило имеет серотиповую специфичность [5].

Целью работы явилось исследование серотипового и генетического разнообразия пневмококков при различных инфекционных заболеваниях у детей, определение чувствительности *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы исследования

Обследовано 459 детей в возрасте от 0 до 17 лет, госпитализированных в стационары г. Красноярска по поводу острого гнойного среднего отита, острого тонзиллита, внебольничной пневмонии, гнойного бактериального менингита в период 2013—2019 гг. Доля больных средним отитом от общего числа наблюдаемых пациентов составила 18,52% (85 человек), тонзиллитом — 27,89% (128 человек), внебольничной пневмонией — 26,14% (120 человек), менингитом — 26,8% (123 человека). Средний возраст больных составил 4,88 ± 2,9 года.

Бактериологические исследования проводились в соответствии с действующими нормативными документами [7—9]. Чувствительность культур *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам исследовали диско-диффузионным методом согласно рекомендациям EUCAST (диски Bio-Rad, США) [10]. Минимальные подавляющие концентрации антибиотиков определяли с помощью Е-тестов (bioMerieux, Франция) [11]. В качестве контроля использовался штамм *S. pneumoniae* ATCC 49619.

Идентификацию и серотипирование культур *S. pneumoniae* проводили с помощью мультиплексной ПЦР с электрофоретической детекцией, используя 40 пар праймеров [12]. Штаммы, серотип которых не был установлен, относили к «нетипируемым».

Мультилокусное сиквенс-типирование штаммов *S. pneumoniae* (MLST) проводили с целью выявления фрагментов 7 генов «домашнего хозяйства», кодирующих ферменты, необходимые для осуществления жизненно важных биохимических реакций [13]. Очистка ампликонов и секвенирование проводились компанией «Синтол» (Россия). Анализ результатов проводили с использованием программного обеспечения Finch TV (версия 1.4.0), BioEdit Sequence Alignment Editor (версия 7.1.3.0) и базы данных MLST [14]. Принадлежность сиквенс-типов к определенным клональным комплексам (CC) определяли с помощью программы goeBURST [15], для графического отображения результатов использовали программу PHYLOViZ 2.0.

У всех изолятов *S. pneumoniae* с МПК > 0,064 мг/л проводили ПЦР-детекцию фрагментов генов, кодирующих «нормальные» (неизмененные) пенициллинсвязывающие белки ПСБ): *pbp1a*, *pbp2x* и *pbp2b* [16]. Штаммы пневмококка, демонстрирующие устойчивость к эритромицину, тестировали на наличие генов резистентности к макролидам, линкозамидам и стрептограмину B — *ermB* (рибосомальное метилирование) и *mefE* (макролидный эффлюкс) [17]. Ген резистентности к тетрациклину *tetM*, кодирующий «защиту рибосом», выявляли у изолятов, устойчивых к данному препарату [18].

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.0. Количественные признаки были представлены в виде среднего значения, минимального и максимального

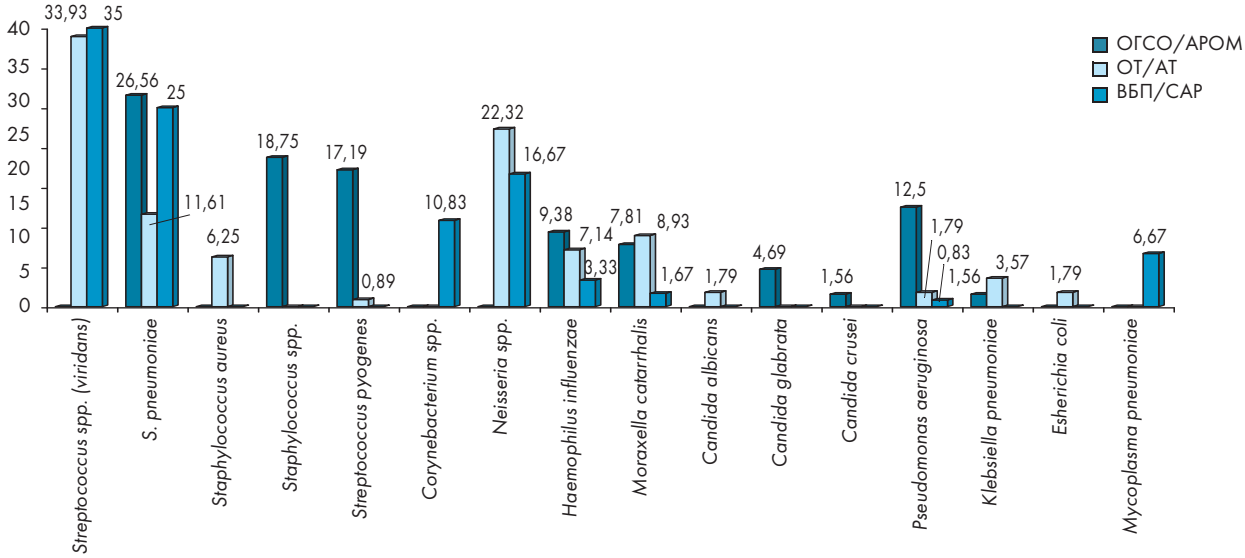

Рисунок 1. Видовой состав микрофлоры при остром гнойном среднем отите (ОГСО, *n* = 64), остром тонзиллите (ОТ, *n* = 121)*, внебольничной пневмонии (ВБП, *n* = 120)*

Figure 1. Species of microorganisms isolated from patients with acute purulent otitis media (APOM, *n* = 64), acute tonsillitis (AT, *n* = = 121)*, community-acquired pneumonia (CAP, *n* = 120)*

* при выявлении микробных ассоциаций указан преобладающий микроорганизм/in case of microbial association the prevalent microorganism is indicated

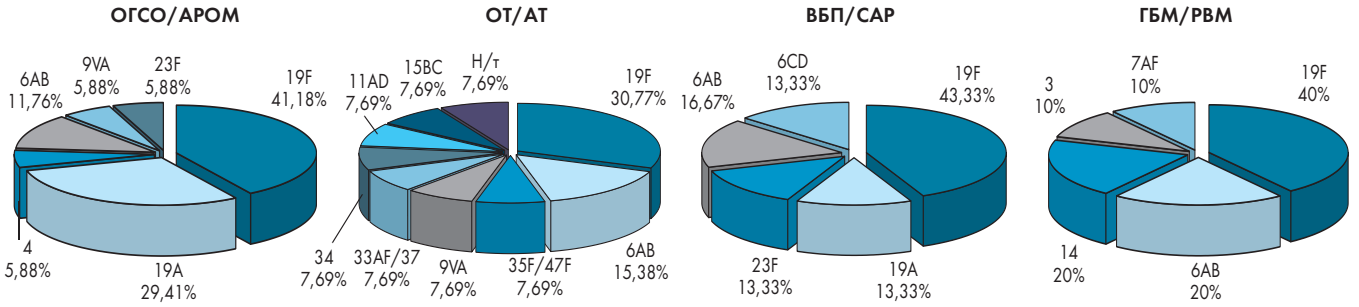

Рисунок 2. Серотипы *S. pneumoniae* у обследуемых детей при остром гнойном среднем отите (ОГСО), остром тонзиллите (ОТ), внебольничной пневмонии (ВБП), гнойном бактериальном менингите (ГБМ). Н/т — нетипируемые изоляты
Figure 2. *S. pneumoniae* serotypes in surveyed children with acute purulent otitis media (APOM), acute tonsillitis (AT), community-acquired pneumonia (CAP), purulent bacterial meningitis (PBM). Nt — non-typed isolates

значений, стандартного отклонения. Качественные признаки были представлены в виде абсолютных чисел и долей (%).

Результаты и их обсуждение

Пневмококковая этиология заболевания была подтверждена в 16,78% случаев (77 чел), при этом роль *S. pneumoniae* при разных заболеваниях была различна.

При гнойном среднем отите бактериологическое исследование дало положительный результат у 75,29% (64 чел.) больных детей. Доля пневмококка среди всех возбудителей составила 26,56% (17 чел.), 16 детей из 17 были младше трех лет (рис.1).

При остром тонзиллите положительный результат бактериологического исследования микрофлоры миндалин был получен у 121 ребенка из 128 (94,53%). Пневмококк был выделен от 10,74% (13 чел.) больных (рис. 1).

У больных внебольничной пневмонией (ВП) пневмококк был выявлен в 25% случаев (30 чел.). Другие, этиологически значимые микроорганизмы с преобладанием условно-патогенной микрофлоры, были обнаружены у 37,5% пациентов (рис. 1).

У больных гнойным бактериальным менингитом этиология была установлена в 75,61% случаев (93 человека). Среди возбудителей преобладала *Neisseria meningitidis* (54,84%). Доля *S. pneumoniae* составила 18,28% (17 больных). Далее в порядке убывания выявлялись *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* и *Staphylococcus epidermidis* (11,83%, 10,75% и 4,3% соответственно).

Пневмококки, полученные от больных гнойным средним отитом, принадлежали к четырем серотипам и двум серогруппам. Отмечалось выраженное преобладание 19F серотипа, на втором месте находился серотип 19A, на третьем — 6 серогруппа (рис. 2).

Серотиповый пейзаж у больных острым тонзиллитом был довольно разнообразен, преобладали типы 19F и 6AB (рис. 2).

У больных пневмонией преобладающим серотипом *S. pneumoniae* являлся 19F (рис. 2).

При менингите определение серотипа *S. pneumoniae* было произведено у 10 больных из 17 (58,8%). Как и в предыдущих случаях отмечалось выраженное преобладание типа 19F (рис. 2).

В целом, все изоляты пневмококка, выделенные от больных (68 культур), относились к 7 серотипам и 7 серогруппам, один штамм являлся «нетипируемым» (рис. 3).

При анализе генотипов исследуемых штаммов обращает на себя внимание выраженное преобладание клонального комплекса (СС) 320, доля которого составила 47,53%. На втором месте находились пневмококки СС 315 (11,48%), на третьем, в равных долях, — СС 156, СС 30 и СС 5406 (по 6,56%).

Анализируя клональную принадлежность исследуемых штаммов в зависимости от клинической формы пневмококковой инфекции необходимо отметить, что *S. pneumoniae*, выделенные от детей с внебольничной пневмонией и отитом, в основном относились к СС 320. Также от больных с вышеуказанной патологией были получены штаммы, относящиеся к новым сиквенс-типам 9248, 14610 и 14612, обнаруженным впервые в мире.

«Менингитные» штаммы принадлежали к 5 сиквенс-типам и 5 клональным комплексам. Клональные комплексы 156 (ST 2944) и 320 (ST 9659) распространены по всему миру, характеризуются резистентностью к антибиотикам и часто вызывают инвазивные инфекции [14]. СС 218 (ST 3544) описан в странах Европы, Африки и Саудовской Аравии. Клональный комплекс 180 (ST 180, серотип 3) распространен в основном в странах Европы и РФ, вызывая не только менингит, но и неинвазивные инфекции (отит, пневмония), также встречается у бактерионосителей [14]. Сиквенс-тип 5839 не отнесен ни к одному из клональных комплексов, впервые был обнаружен в Норвегии в 2009 г. [14].

Изоляты, полученные от больных острым тонзиллитом, не имели клонального родства с другими клиническими штаммами, за исключением ST 167, входящего в состав глобально распространенного комплекса СС 156. ST 62, 447 и 1203 также являлись глобально

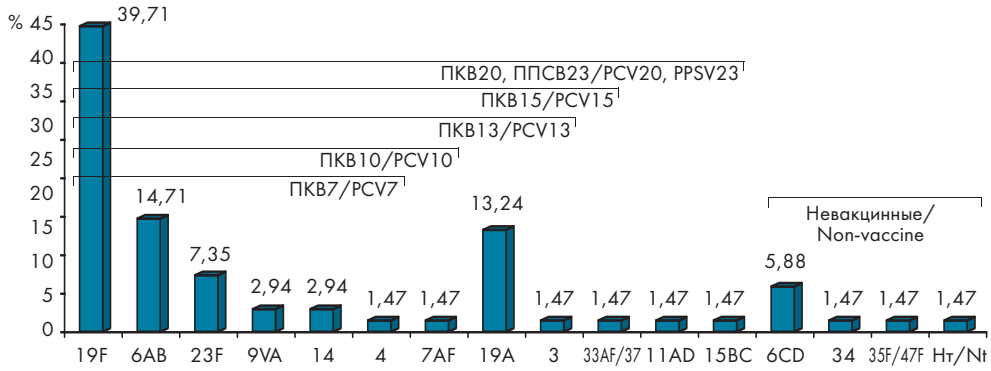

Рисунок 3. Серотиповый пейзаж чистых культур *S. pneumoniae* (*n* = 68).
Figure 3. *S. pneumoniae* serotype distribution (*n* = 68)
ПКВ7 — пневмококковая 7-валентная конъюгированная вакцина; ПКВ10 — пневмококковая 10-валентная конъюгированная вакцина; ПКВ13 — пневмококковая 13-валентная конъюгированная вакцина; ПКВ15 — пневмококковая 15-валентная конъюгированная вакцина; ПКВ20 — пневмококковая 20-валентная конъюгированная вакцина; ППСВ23 — пневмококковая 23-валентная полисахаридная вакцина; Нт — нетипируемые изоляты./PCV7 — pneumococcal conjugated 7-valent vaccine; PCV10 — pneumococcal conjugated 10-valent vaccine; PCV13 — pneumococcal conjugated 13-valent vaccine; PCV15 — pneumococcal conjugated 15-valent vaccine; PCV20 — pneumococcal conjugated 7-valent vaccine; PPSV23 — pneumococcal 23-valent polysaccharide vaccine; Nt — non-typed isolates

распространенными, ST 7769 был ранее описан на территории Китая, ST 1028 — Польши, а ST 7842, 13662 и 2989 — только на территории РФ.

Доля пневмококков с выявленной нечувствительностью хотя бы к одному антибактериальному препарату составила 82,35% (56 из 68). 52,94% (36 изолятов) проявляли мультирезистентность (табл. 1).

Доля *S. pneumoniae* клонального комплекса 320 среди резистентных штаммов составила 69,12%, при этом преобладал серотип 19F (18 изолятов из 27). Фенотип резистентности пневмококков СС 320, относящихся к 6 сиквенс-типам, характеризовался сниженной чувствительностью к пенициллину (МПК 0,5—2 мг/л), устойчивостью к амоксициллину (МПК 1,5—6 мг/л), цефалоспоринам II поколения (цефуроксим, МПК 1,5—12 мг/л), эритромицину (МПК > 256 мг/л) и клиндамицину (МПК > 256 мг/л). К цефтриаксону были нечувствительны 87,5% штаммов (МПК 0,5—4 мг/л), к тетрациклину — 81,25% (МПК 8—48 мг/л). Почти у всех штаммов имелись мутации одновременно в трех генах, кодирующих пенициллин-связывающие белки: *pbp1a, pbp2b, pbp2x*. У 85,19% представителей СС 320 выявлялись гены резистентности к макролидам, линкозамидам, стрептограмину B и тетрациклинам: *ermB, mefE* и *tetM* (табл. 1).

S. pneumoniae СС 315/6AB (ST 315, ST 14610, ST 14612) были представлены 6-ю изолятами, что составило 12,77% от числа резистентных штаммов. МПК пенициллина не превышала 1 мг/л, амоксициллина и цефуроксима — 1,5 мг/л, к цефтриаксону наблюдалась чувствительность. У ½ штаммов имелись мутации в генах *pbp2x* и *pbp2b*, у ½ — во всех трех генах, кодирующих пенициллин-связывающие белки. У всех изолятов СС 315 имелась устойчивость к макролидам, клиндамицину и тетрациклину, выявлялись гены *ermB, mefE, tetM*.

Клональный комплекс 156 был представлен тремя сиквенс-типами. ST 156 и ST 167 относились к серотипу 9VA, а ST 2944 — к серотипу 14. У ST 2944 МПК пенициллина, амоксициллина, цефуроксима и цефтриаксона составили 2—4, 4—8, 8—12 и 1—1,5 мг/л соответственно; наблюдалась устойчивость к эритромицину (МПК = 2 мг/л). У ST 156 и 167 соответствующие значения МПК беталактамов составили 0,75, 1,5, 3 и 1 мг/л. Штамм ST 167 также был устойчив к макролидам, клиндамицину (МПК > 256 мг/л) и тетрациклину (МПК 24 мг/л) (табл. 1). У всех представленных изолятов имелись мутации в генах *pbp1a, pbp2b, pbp2x* и отсутствовали гены *ermB, mefE* и *tetM*.

Заключение

Среди клинических штаммов пневмококка отмечалось выраженное преобладание серотипа 19 F. На втором месте при всех заболеваниях, за исключением острого среднего отита, находился *S. pneumoniae* 6AB. Соответствие выявленных серотипов антигенному составу пневмококковых вакцин составило: ПКВ10 — 70,59%, ПКВ13 — 85,3%, ПКВ15 — 86,77%, ПКВ20 и ППСВ23 — 88,24%. Таким образом, большинство случаев заболеваний являлись вакцинно-предотвратимыми.

Основная часть генотипов *S. pneumoniae* принадлежала к глобально распространенным генетическим линиям — клональным комплексам 320, 156, 315, 180, 30 и др. Более трети геновариантов были распространены только на территории Российской Федерации, из них 9 штаммов — представители ST 9248, ST 14610 и ST 14612 — были выявлены впервые в мире на территории Красноярского края.

Доля штаммов пневмококка с выявленной нечувствительностью к антибактериальным препаратам высока — в ½ случаев наблюдалась мультирезистентность. Сни-

Таблица 1. Чувствительность *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам* (*n* = 68)
Table 1. *S. pneumoniae* sensitivity to antimicrobials* (*n* = 68)

Название препарата/Name of antibiotic	Ч (%)/S (%)	УР (%)/ I (%)	Р (%)/R (%)
Оксациллин/Oxacillin	25	—	75
Бензилпенициллин/ Benzilpenicillin	30,89	66,17	2,94
Амоксициллин/Amoxicillin	32,35	2,94	64,71
Цефуроксим/Cefuroxime	17,65	0	82,35
Цефтриаксон/Ceftriaxone	47,06	48,53	4,41
Меропенем/Meropenem	100	—	0
Эритромицин/Erythromycin	35,29	0	64,71
Азитромицин/Azithromycin	35,29	0	64,71
Клиндамицин/Clindamycin	39,71	—	60,29
Тетрациклин/Tetracycline	60,71	0	39,29
Норфлоксацин/Norfloxacin	94,12	—	5,88
Левофлоксацин/Levofloxacin	98,53	—	1,47
Рифампицин/Rifampicin	100	0	0
Ванкомицин/Vancomycin	100	0	0
Линезолид/Linezolid	100	0	0

* — согласно критериям EUCAST, 2019 [9]/according to EUCAST criteria, 2019 [9]
Ч — культура чувствительна; УР — культура умеренно резистентна; Р — культура резистентна/ S — sensitive; I — intermediate; R — resistant

женная чувствительность к пенициллину связана с изменением структуры пенициллинсвязывающих белков, резистентность к макролидам, линкозамидам и тетрациклину обусловлена одновременным присутствием нескольких механизмов: эффлюкса, рибосомального метилирования и «защиты рибосом». Таким образом, макролиды не следует рекомендовать в качестве препаратов выбора, а дозировка амоксициллина при лечении пневмококковых инфекций должна составлять не менее 60—90 мг/кг в сутки.

Литература/References:

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Брико Н.И., Лобзин Ю.В., Козлов Р.С., Костинов М.П., Королёва И.С., Рудакова А.В., Сидоренко С.В., Таточенко В.К., Харит С.Р., Федосеенко М.В., Вишнёва Е.А., Селимзянова Л.Р. Вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции у детей. Педиатрическая фармакология. 2018;15(3):200-211.
   Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Brico N.I., Lobzin Y.V., Kozlov R.S., Kostinov M.P., Koroleva I.S., Rudakova A.V., Sidorenko S.V., Tatochenko V.K., Kharit S.M., Fedoseenko M.V., Vishneva E.A., Selimzyanova L.R. Vaccine prevention of pneumococcal Infection in children. *Pediatric Pharmacology.* 2018; 15(3): 200—211. (In Russ.)
   https://doi.org/10.15690/pf.v15i3.1899
2. Brooks L.R.K., Mias G.I. Streptococcus pneumoniae's virulence and host immunity: aging, diagnostics, and prevention. *Front. Immunol.* 2018;9:1366. doi: 10.3389/fimmu.2018.01366
3. Общая заболеваемость детского населения России (0—14 лет) в 2018 году. Министерство здравоохранения Российской Федерации: статистические материалы. 2019; Часть IV.
   The overall incidence of Russian childhood population (0—14 years) in 2018. Ministry of Healthcare in Russian Federation. 2019; Part IV. (In Russ.)
4. Белошицкий Г.В., Королева И.С., Королева М.А. Эпидемиологическая характеристика пневмококкового менингита в Российской Федерации в 2016 г. Материалы XI съезда ВНПОЭМП. Москва, 2017:329.
   Beloshitskiy G.V.,Korolyova I.S., Korolyova M.A. Epidemiological features of pneumococcal meningitis in Russian Federation. Materials of XI congress of Russian scientific-practical society of epidemiologists, microbiologists and parasitologists. Moscow, 2017:329. (In Russ.)
5. Yahiaoui R.Y., Bootsma H.J., den Heijer C.D.J., Pluister G.N., John Paget W., Spreeuwenberg P., Trzcinski K., Stobberingh E.E. Distribution of serotypes and patterns of antimicrobial resistance among commensal Streptococcus pneumoniae in nine European countries. *BMC Infect Dis.* 201;18(1):440.
   doi: 10.1186/s12879-018-3341-0
6. Ильенкова Н.А., Корецкая Н.М., Куртасова Л.М., Гуничева Н.В., Бахарева Н.В., Чикунов В.В., Степанова Л.В., Прокопцева Н.Л. Итоги научно-практической конференции для врачей педиатров «Пневмония у детей: диагностика, лечение и профилактика». Сибирское медицинское обозрение. 2014; 2:104—105.
   Ilyenkova N.A., Koretskaya N.M., Kurtasova L.M., Gunicheva N.V., Bakhareva N.V., Chikunov V.V., Stepanova L.V., Prokoptseva N.L. The results of scientific-practical conference for pediatricians «Pneumonia in children: diagnosis, treatment and prevention» *Siberian*

Medical Review. 2014; 2:104-105. (In Russ.)
doi: 10.20333/25000136-2014-2-104-105

7. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии: Методические рекомендации МР 4.2.0114-16. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2017.
Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia of pneumococcal etiology: Guidelines 4.2.0114-16. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being. 2017. (In Russ.)
8. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов: Методические указания МУК 4.2.1887-04. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2005.
Laboratory diagnosis of meningococcal infection and purulent bacterial meningitis: Guidelines 4.2.1887-04. Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 2005. (In Russ.)
9. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 г. № 535.
On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions: Order of the USSR Ministry of Health, 04.22.1985, No. 535. (In Russ.)
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. http://www.eucast.org.
11. bioMerieux SA. Etest Application Guide [интернет-ресурс]. https://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/supplementary_inserts_-_16273_-_b_-_en_-_eag_-_etest_application_guide-3.pdf
12. Centers for disease control and prevention. Conventional PCR deduction of 40 pneumococcal serotypes or serogroups. https://www.cdc.gov/streplab/downloads/pcr-oligonucleotide-primers.pdf
13. Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. Streptococcus pneumoniae isolates database. https://pubmlst.org/bigsdb?db = pubmlst_spneumoniae_isolates
14. Global optimal eBURST http://www.phyloviz.net/goeburst/#Description
15. Nagai K., Shibasaki Y., Hasegawa K., Davies T.A., Jacobs M.R., Ubukata K., Appelbaum P.C. 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.
16. Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Lahham A., Grudinina S.A., Ilina E.N., Weigel L.M., Sidorenko S.V. Mechanisms of macrolide resistance among Streptococcus pneumoniae isolates from Russia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(6):2260—2262. doi: 10.1128/AAC.01270-07
17. Poyart C., Jardy L., Quesne G., Berche P., Trieu-Cuot P. Genetic basis of antibiotic resistance in Streptococcus agalactiae strains isolated in a French hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47(2):794—797.
18. Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. Primers and PCR conditions for MLST of S. pneumoniae. https://pubmlst.org/spneumoniae/info/primers.shtml

Информация о соавторах:

Галина Петровна Мартынова (Galina P. Martynova), д.м.н., профессор, заведующая кафедрой детских инфекционных болезней с курсом ПО, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; Российская Федерация, г. Красноярск; MD, Professor, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Russian Federation; docmartynova@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-2014-0698

Наталья Анатольевна Ильенкова (Natalya A. Ilyenkova), д.м.н., профессор, заведующая кафедрой детских болезней с курсом ПО, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; Российская Федерация, г. Красноярск; MD, Professor, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Russian Federation; ilenkova1@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-8058-7806

Ирина Александровна Кутищева (Irina A. Kutishcheva), к.м.н., доцент кафедры детских инфекционных болезней с курсом ПО, к.м.н, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; Российская Федерация, г. Красноярск; PhD, Associate Professor of Children's Infectious Disease Department, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Russian Federation; iria24@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7055-6683

Светлана Владиславовна Домрачева (Svetlana V. Domracheva), врач клинический фармаколог, Красноярская межрайонная детская больница №4; Российская Федерация, г. Красноярск; Clinical Pharmacologist, Krasnoyarsk Interregional Children's Hospital №4; Russian Federation; svd@krgdb4.ru, http://orcid.org/0000-0001-7902-685X

Ольга Петровна Овчинникова (Olga P. Ovchinnikova), заведующая бактериологической лабораторией, Красноярская межрайонная детская клиническая больница №1; Российская Федерация, г. Красноярск; Head of Bacteriological Laboratory, Clinical Pharmacologist, Krasnoyarsk Interregional Children's Hospital №4; Russian Federation; son03nos@rambler.ru, http://orcid.org/0000-0002-7701-5206

Елена Сергеевна Соколовская (Elena S. Sokolovskaya), соискатель кафедры детских болезней с курсом ПО, врач-педиатр, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; Российская Федерация, г. Красноярск; Pediatrician, Reseacher of Children's Disease Department, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Russian Federation; selenasergsokol@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-5351-5433

Статья поступила 19.02.2020

Конфликт интересов: Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported.