

E. V. Samatova, A. E. Druy, G. A. Tsaur, L. G. Boronina

SEROTYPING OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE STRAINS, ISOLATED FROM CHILDREN IN URAL REGION WITH THE USE OF MULTIPLEX PCR

¹State Budgetary Educational Institution of higher professional education Ural State Medical Academy of the Ministry of Health care and Social Development of the Russian Federation, 620028, 3, Ul. Repina, Yekaterinburg, Russian Federation, 620028; ²State Budgetary Institution of Healthcare of the Sverdlovsk region Regional Children's Hospital N 1, 32, Seraphima Deryabina Str., Yekaterinburg, Russian Federation, 620149;

³State Budgetary Institution of Healthcare of the Sverdlovsk region Center Organization Of Specialized Care Institute Of Medical Cell Technologies, 25, ul. Soboleva, Ekaterinburg, 620075

This article presents results of the multiplex PCR investigation of the serotypes distribution of *S. pneumoniae* strains circulating in Ekaterinburg and the Sverdlovsk region. This study was performed in children with invasive, noninvasive pneumococcal infections and carriers. 118 strains of pneumococci typed out of 129 ones (91.5%) referred to the 15 serotypes: 6A, 6B (20,8%); 23F (13,9%); 19F (11,5%); 8, 9V, 9A, 11F, 11A, 11B, 11C, 11D, 12F, 15A, 33F (11,5%); 3 (10%) 2, 15F, 17F, 22F, 23B (3,9%); 18B, 18C (3,9%), 19A (3,2%); 7F, 19B, 19C, 23A (3,2%); 5, 10A (1,6%), 20 (1,6%), 14 (1,6%); 9L, 9N, 15B, 15C (1,6%); 18F (1,6%); 18A (1,6%). Coincidence rate of serotypes *S. pneumoniae*, isolated from children with chronic infectious and inflammatory diseases of the lung with serotypes included into the content of the conjugate vaccines is: 7-valent - 69.3%, 10-valent - 98.2%, 11 - and 13-valent - 100%.

Key words: PCR, serotypes of *S. pneumoniae*, conjugated vaccines, children.

Streptococcus pneumoniae является одним из основных возбудителей как инвазивных (менингит, сепсис), так и неинвазивных (средний отит, синусит и др.) форм острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваний легких (ХИВЗЛ) у детей и взрослых [5, 11].

По данным разных авторов, распространенность инвазивных форм пневмококковых инфекций находится в пределах 15–30 на 100 000 населения, но частота существенно варьирует в различных возрастных группах [15, 20, 25, 27].

Исходя из антигенных свойств полисахаридной капсулы, выделяют 46 серогрупп и 91 серотип пневмококка. По мнению ряда авторов, спектр преобладающих серотипов зависит от возраста, временного фактора и географического региона, хотя наиболее часто встречающиеся типы капсул идентифицированы повсеместно [2, 6, 10, 11].

В настоящее время одним из основных способов, влияющих на заболеваемость пневмококковой инфекцией, является вакцинопрофилактика.

К пневмококковым вакцинам относят конъюгированные: 7-валентную, 10-валентную, 11-валентную и 13-валентную и 23-валентную полисахаридную вакцину [6, 16, 19].

Конъюгированные вакцины (PCV, pneumococcal conjugate vaccine) различаются между собой числом серотипов пневмококка, входящих в их состав. В PCV7 включены серотипы 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F и 23F, в PCV10, помимо вышеперечисленных, входят дополнительно серотипы 1, 5 и 7F, в PCV11 - серотип 3, в PCV13 – серотипы пневмококков 3, 6A и 19A. Полисахаридная пневмококковая вакцина содержит максимальное количество очищенных капсульных полисахаридов *S. pneumoniae* – 23 серотипа: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F, 33F [14, 23].

Для корреспонденции: Саматова Елена Валерьевна, врач-бактериолог лаб. клинической микробиологии ОДКБ №1, заочный аспирант каф. клинической лабораторной диагностики и бактериологии фак. повышения квалификации и профессиональной переподготовки УГМА, e-mail: lavrinenko@eka-net.ru

Для оценки эффективности пневмококковых вакцин необходимо принимать во внимание, какие серотипы *S. pneumoniae* циркулируют на данной территории. В проведенных ранее немногочисленных исследованиях было показано, что в России у детей в возрасте до 5 лет доминируют серотипы 19, 6, 23, 14, 3, 9, в меньшей степени – 18 и 7. Распространенность серотипов пневмококка, вызывающих инфекции в разных возрастных категориях, в доступной отечественной литературе не описаны [3, 4, 6, 8, 9, 11].

Серотипирование пневмококков также необходимо для изучения этиологии обострений ХИВЗЛ, их лечения и профилактики.

Цель исследования – определение состава серотипов *S. pneumoniae*, выделенных на территории Среднего Урала, в том числе у детей с хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями легких.

Материалы и методы

В исследование были включены дети в возрасте от 5 мес до 17 лет с инвазивными заболеваниями – 4 (менингит, сепсис), внебольничной пневмонией – 7, ХИВЗЛ – 34 (бронхоэктатическая болезнь, хронический бронхит), острым средним отитом (ОСО) – 5, риносинуситом – 42 и дети без признаков тонзиллита, обследованные на носительство пневмококка, – 77, проживающие в Екатеринбурге и Свердловской области (Нижнем Тагиле, Каменск-Уральский, Асбесте).

У детей проводился посев следующих клинических материалов: при инвазивных заболеваниях – кровь, спинно-мозговая жидкость (СМЖ); при внебольничной пневмонии – мокрота, плевральный выпот, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ); при ХИВЗЛ – БАЛ, мокрота; при ОСО – отделяемое среднего уха; при риносинусите - отделяемое из полости носа; на носительство пневмококка – мазок со слизистой зева.

С января 2005 г. по февраль 2012 г. было выделено 129 штаммов *S. pneumoniae*.

Доставку и исследование клинических материа-

лов проводили согласно МУ 4.2.2039–05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» и приказу от 22.04.85 Минздрава СССР № 535 [12, 18]. Методика посева и набор питательных сред определялись видом исследуемого клинического материала. Идентификация и реидентификация выделенных штаммов *S. pneumoniae* осуществлялись на основании: морфологии колоний на кровяно-сывороточном агаре (КСА, заявка на патент от 08.07.11, регистрационный № 2011128466) после инкубации в обычной атмосфере при температуре 37°C в течение 18–24 ч, наличия α -гемолита, чувствительности к оптохину, характеру роста в сахарном и сахарно-сывороточном бульонах, каталазной реакции, положительных результатов латекс-агглютинации с использованием набора Slidex pneumo-Kit («bioMerieux», Франция). Выделенные штаммы пневмококков хранили в пробирках с триптиказо-солевым бульоном с добавлением 15% стерильного глицерина при -70°C и параллельно способом для длительного хранения бактерий в авторской модификации при -20°C. За 6 мес до определения серотипов замороженные штаммы после извлечения из холодильника засеивали на КСА, инкубировали в течение суток в атмосфере с повышенным содержанием CO₂ (5%) при 37°C, затем 4–5 полных бактериологических петель (диаметром 1 мм) полученной субкультуры инокулировали в 250 мкл транспортной среды (физиологический раствор с добавлением 0,1% азида Na) и немедленно замораживали при -20°C, где и хранили их до использования.

Определение серологических типов *S. pneumoniae* осуществлялось методом мультиплексной ПЦР. Праймеры («Syntol», Россия), специфичные для различных генов *S. pneumoniae*, синтезированы на основании нуклеотидных последовательностей, приведенных в статье D.A. Brito и соавт. [19], где также подробно описана методика молекулярного типирования пневмококков, поэтому нами кратко приведены суть технологии и ее модификации. ПЦР-смесь в объеме 25 мкл включала дезоксинуклеотидтрифосфаты («Fermentas», Германия) в конечной концентрации 0,1 мМ, прямой и обратный праймеры 0,3 пМ, сульфат магния (ЦНИИЭ, Россия) 3,5 мМ, химически инактивированную TaqF ДНК-полимеразу (ЦНИИЭ, Россия) – 2 ЕД, деионизованную воду в объеме, необходимом для достижения 22,5 мкл. Исследуемый материал в виде бактериальной суспензии в транспортной среде вносился в объеме 2,5 мкл. ПЦР проводилась в амплификаторе Терцик («ДНК-технология», Россия) при следующих условиях: 15 мин при 95°C, 30 циклов; 10 с при 95°C; 15 с при 60°C; 15 с при 72°C; 5 мин при 72°C. Детекция результатов ПЦР осуществлялась с помощью электрофореза. 10 мкл ПЦР-продукта вносили в 2% агарозный гель, окрашенный бромистым этидием. В каждую серию ставили маркер молекулярной массы размером 100 пар нуклеотидов (п. н) («СибЭнзим», Россия). Параметры электрофореза были следующими: напряжение 180 В, сила тока 160 мА, мощность 30 Вт. Вре-

мя проведения электрофореза зависело от размеров ожидаемых ПЦР-продуктов: при размере продуктов менее 818 п. н. 45 мин, при размере 980–1187 п. н. электрофорез проводился 80 мин. Документирование результатов электрофореза и интерпретация результатов проводились с использованием системы Gel DocXR («Bio-Rad», США) в программе Quantity One («Bio-Rad», США).

Все образцы были распределены на группы в соответствии с результатами группоспецифических реакций. При одновременной наработке низкомолекулярных и высокомолекулярных ПЦР-продуктов (например, продукт А размером 1187 п. н., продукт В – 980 п. н.) наблюдалось конкурентное ингибирование синтеза последних, что привело к появлению ложнопозитивных результатов, приведших к расширению 1-й группы за счет 2-й и 3-й групп, а также 6-й группы за счет 4-й и 5-й групп. Такие образцы были дополнительно протестированы при модифицированных условиях ПЦР: увеличение количества циклов до 35 с увеличенным временем присоединения праймеров и элонгации (до 20 и 30 с соответственно), а также в условиях отсутствия праймеров для синтеза низкомолекулярных продуктов. Это дало возможность получить распределение между группами, сопоставимое с ранее опубликованными данными [6, 9, 10, 18, 19, 24].

Далее внутри каждой группы проводились серотипоспецифические реакции, позволяющие определить серотип *S. pneumoniae*. Кроме того, для исключения случайной ошибки образцы, попавшие в 1-ю группу, были протестированы в серотипоспецифических реакциях для 2-й и 3-й групп, а образцы, включенные в 6-ю группу, – в серотипоспецифических реакциях для 4-й и 5-й групп. При этом ни в одном случае неспецифических продуктов ПЦР получено не было. Последовательно проведенные мультиплексные ПЦР в описанном нами варианте позволяют определить отдельные серотипы или неделимые совокупности серотипов, приведенные в таблице [19].

Результаты и обсуждение

Из 129 штаммов *S. pneumoniae*, протестированных методом мультиплексной ПЦР, серотип определен у 91,5% штаммов (см. таблицу). По данным литературы, количество нетипируемых штаммов, определяемых молекулярными методами, варьирует от 0,7 до 15% [6, 9, 10, 19].

Как видно из данных, представленных в таблице, первенство было разделено между серотипами 6A/6B, 23F, 19F и неделимой совокупностью – 8, 9VA, 11FABCD, 12F, 15A, 33F (в сумме 58,1%).

Дети первых лет жизни являются основными источниками пневмококковой инфекции, заражая окружающих, в том числе и взрослых [11].

Поэтому интерес представляет также распределение серотипов пневмококка в разных возрастных группах пациентов: дошкольников (0–6 лет, $n = 66$) и школьников (7–17 лет, $n = 63$), что показано на рисунке (n – количество детей с учетом обследованных в динамике).

Результаты серотипирования пневмококков у детей по нозологиям

Серотип	Количество штаммов (абс. % от общего)	Вид заболевания и клинический материал					
		сепсис, менингит: кровь, СМЖ	внебольничная пневмония: мокрота, плевральный выпот, БАЛ	ХИВЗЛ: БАЛ, мокрота	ОСО: отделяемое из среднего уха	риносинусит: отделяемое из полости носа	носители: мазок со слизистой зева
3	13/10	1	0	1	0	7	4
5, 10А	2/1,6	1	0	0	0	1	0
20	2/1,6	0	0	1	0	0	1
19А	4/3,2	1	0	1	0	1	1
8, 9V, 9А, 11F, 11А, 11В, 11С, 11D, 12F, 15А, 33F	15/11,5	1	1	7	1	3	2
4	0/0	0	0	0	0	0	0
14	2/1,6	0	0	0	0	1	1
9L, 9N, 15B, 15C	2/1,6	0	0	0	0	2	0
6А, 6В	27/20,8	0	1	14	1	10	1
18F	2/1,6	0	0	1	0	1	0
23F	18/13,9	0	1	11	0	4	2
2, 15F, 17F, 22F, 23B	5/3,9	0	0	1	1	3	0
1	0/0	0	0	0	0	0	0
18B, 18C	5/3,9	0	0	5	0	0	0
19F	15/11,5	0	2	9	1	3	0
7F, 19B, 19C, 23A	4/3,2	0	0	1	1	2	0
18А	2/1,6	0	0	2	0	0	0
ПЦР отрицательна, продукт амплификации <i>crpA</i> отсутствует	11/8,5	0	2	2	0	4	3
Всего штаммов (абс. % от общего)	129/100	4/3,1	7/5,4	56/43,4	5/3,8	42/32,6	15/11,7

Выявлены достоверные различия в частоте обнаружения серотипов 3, 19F и нетипируемых штаммов *S. pneumoniae* между детьми дошкольного и школьного возраста. Наиболее вирулентные серотипы – 3, 5, 14 также преимущественно встречались у дошкольников. К сожалению, небольшая частота выделения пневмококков не позволила выявить достоверные различия внутри следующих возрастных категорий: до 1 года, 1–3 года, 4–6 лет, 7–10 лет, 11–14 лет и 15–17 лет.

Известно, что на долю серотипов 19, 23, 14, 6, 18, 9, 4 в США приходится свыше 80% от числа всех инвазивных инфекций среди детей до 5 лет, а в России преобладают серотипы 19, 23, 1, 14, 3 и 5 [6, 7, 10, 21, 22]. При инвазивных инфекциях мы обнаружили следующие серотипы: 3, 19А и неделимые совокупности 5, 10А и 8, 9V, 9А, 11F, 11А, 11В, 11С, 11D, 12F, 15А, 33F (по 25%).

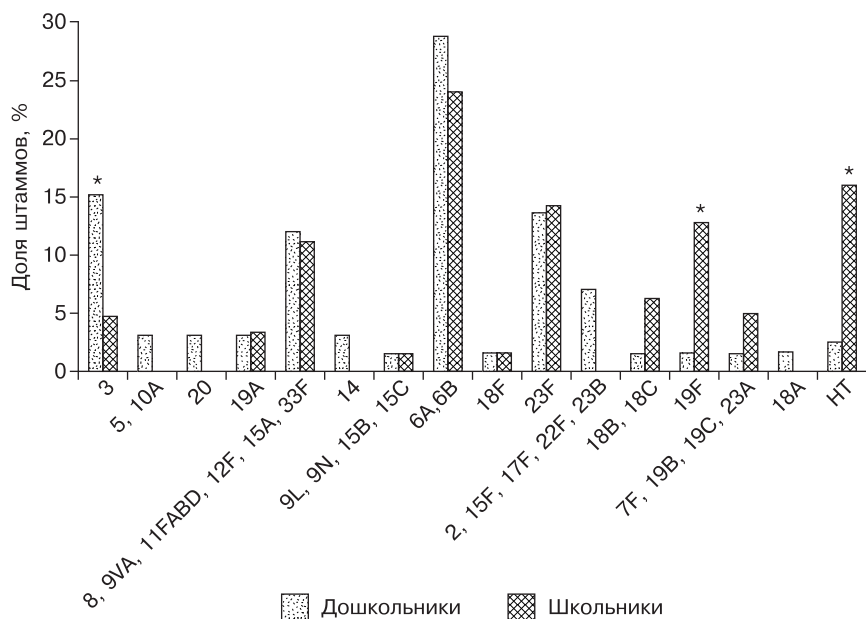
В общей сложности от 34 детей с ХИВЗЛ выделено 56 штаммов *S. pneumoniae*, относящихся к 12 серотипам. При этом 15 детей были обследованы в динамике, из них у 11 детей пневмококк выделялся двукратно, у 1 ребенка – трехкратно, у 3 – четырехкратно. Превалировали 6А/6В (25%); 23F (19,6%); 19F (16%) и неделимая совокупность серотипов – 8, 9V, 9А, 11F, 11А, 11В, 11С, 11D, 12F, 15А, 33F (12,5%). Общая доля наиболее часто встречаемых серотипов

составила 73,2%. Серотип 3 выявлен лишь в 1,8% случаев. На оставшиеся 26,8% пришлось серотипы: 18F, 19F, 18А и неделимые совокупности: 18В, 18С; 7F, 19В, 19С, 23А и 2, 15F, 17F, 22F, 23В.

Известно, что достоверным доказательством этиологии обострения хронических бронхолегочных заболеваний являются пневмококки, выделенные из «истинной» мокроты и БАЛ [1], поэтому наши данные лишь условно можно сравнить с результатами, полученными в исследованиях Н.А. Маянского и соавт. [9]. Авторы приводят данные о серотипах *S. pneumoniae*, выделенных из ларинготрахеального аспирата детей с муковисцидозом и синдромом Картагенера. При этом наиболее часто встречаемыми серотипами были: 19 (19А+19F; 20%), 23F (16%), 6А/6В и 9V (по 12% каждый), серотип 3 в этой группе больных выявлен не был.

Л.К. Катосова и соавт. [3] изучали серотипы пневмококка, выделенные из мокроты, промывных вод бронхов детей с хронической пневмонией, рецидивирующим бронхитом, муковисцидозом. Наиболее часто они обнаруживали серогруппы/серотипы: 6 (21,9%), 19 (20,5%), 3 (11%), 42 (6,8%); 23 и 9 встречались редко – в 1,4 и 2,7% случаев соответственно.

В нашем исследовании у детей с внебольничной пневмонией были выявлены серотипы, практически идентичные серотипам, выделенным при ХИВЗЛ:



Серотипы *S. pneumoniae*, выделенные у детей разных возрастных групп.
 NT – нетипируемые штаммы; $p < 0,05$.

19F (28,6%); 23F (14,2%); 6A/6B (14,2%), а также неделимая совокупность серотипов - 8, 9V, 9A, 11F, 11A, 11B, 11C, 11D, 12F, 15A, 33F (14,2%).

Из источников литературы известно, что этиология большинства пневмоний связана с серотипами 1-4, 6-8, 14, 18, 19 [4, 8, 9, 17]. Так, по данным Л.К. Катосовой и соавт. [4], 62,3% штаммов пневмококка, выделенных у детей с пневмонией и плевритом, относились к 5 типам/группам: 1, 6, 19, 14 и 3. По данным Р.С. Козлова и соавт. [6], к наиболее часто встречаемым серотипам относились 19 (33,6%), 6 (15,8%), 23 (8,9%) и 14 (7,2%).

Следовательно, приведенные нами данные в сравнении с исследованиями, проведенными в 90-е годы [4, 17], показывают, что на современном этапе в серотиповом спектре *S. pneumoniae* у детей с острыми и хроническими бронхолегочными заболеваниями преобладают серотипы 6A/6B, 23F, 19F при снижении доли 3 и 42.

У детей с диагнозом риносинусита, первенство разделено между серотипами 6A/6B и 3 (в сумме 40,5%). К особенностям можно отнести присутствие неделимой совокупности серотипов 5, 10A, которая не встречалась у носителей и детей с ХИВЗЛ.

У 8 детей с диагнозом риносинусит, кроме посева, отделяемого из полости носа, делался посев со слизистой зева, где также выделен пневмококк. В результате у 6 детей серотипы *S. pneumoniae*, выделенные из зева и носа, были различны, лишь у 1 ребенка они совпали. Занятен тот факт, что еще у 1 ребенка с диагнозом риносинусита из зева выделены 2 штамма пневмококка и 1 штамм из носа, которые отличались: морфологией колоний на КСА (точечные; блюдцеобразные водянистые, блюдцеобразные, все с α -гемолизом), зонами подавления роста вокруг диска с оптохином ($d = 27, 35, 30$ мм соответственно),

а также чувствительностью к различным классам антибиотиков. При этом 1 штамм пневмококка со слизистой зева совпал по серотипу со штаммом из полости носа – 6A/6B, а 2-й штамм из зева относился к серотипу 3.

Даже в пределах одной семьи серотипы *S. pneumoniae* могут различаться, что, вероятно, связано с возрастом пациентов. Так, у сестер 2 и 4 лет из отделяемого полости носа при риносинусите нами были выявлены различные неделимые совокупности серотипов: 8, 9V, 9A, 11F, 11A, 11B, 11C, 11D, 12F, 15A, 33F и 5, 10A.

В свою очередь при ОСО выявлены серотипы 6A/6B, 19F и неделимые совокупности: 2, 15F, 17F, 22F, 23B и 8, 9V, 9A, 11F, 11A, 11B, 11C, 11D, 12F, 15A, 33F (по 20% соответственно). В целом наши данные не противоречат полученным ранее результатам серотипирования в РФ и США, где при ОСО преобладают серотипы 19, 6, 23, 14, 3 и 18 [6, 10, 13].

Среди бактерионосителей выделено всего 7 серотипов: наиболее часто выявлялся серотип 3 (26,6%), а также 23F (13,4%), 20 (6,7%), 19A (6,7%), 14 (6,7%), 6A/B (6,7%) и неделимая совокупность серотипов: 8, 9V, 9A, 11F, 11A, 11B, 11C, 11D, 12F, 15A, 33F (13,4%). Интересным является факт, что не обнаружен ни один серотип, который встречался бы только у бактерионосителей. Это, вероятно, можно объяснить тем, что инвазивные и неинвазивные пневмококковые инфекции часто носят эндогенный характер.

Так как пневмококковые вакцины являются частью программы плановой иммунизации детей, поддерживаемой многими странами, необходимо проводить иммунизацию с учетом результатов серотипирования *S. pneumoniae* на конкретных территориях [11, 20, 22]. При сопоставлении серотипов, входящих в состав конъюгированных пневмококковых вакцин, с серотипами *S. pneumoniae*, выделенных от детей с ХИВЗЛ, выявлено совпадение серотипового спектра на 96,3% с 7-валентной, 98,2% с 10-валентной, 100% с 11-валентной и с 13-валентной вакцинами.

При сравнении полученных данных с результатами исследования, проведенного Р.С. Козловым и соавт. по РФ [6], выявлено, что у детей в Уральском регионе также доминируют серотипы 6A, 6B, 23F, 19F, но в меньшей степени – 3 и 14.

Серотипы пневмококка 6A, 6B обнаружены наиболее часто у детей всех возрастов.

Таким образом, у детей с острыми и хроническими бронхолегочными заболеваниями преобладают следующие серотипы *S. pneumoniae*: 6A, 6B, 23F, 19F, входящие в состав всех конъюгированных пневмококковых вакцин. В то время как менингит и сепсис вызваны чаще серотипами 19A и 3, которые оба включены лишь в 13-валентную пневмококковую

вакцину. Наиболее вирулентный серотип 3 преимущественно встречается у детей до 6 лет, а серотип 19F – старше 6 лет.

Авторы выражают благодарность врачам-бактериологам за помощь в сборе образцов: ГБУЗ СО ОДКБ № 1, Екатеринбург – Кукушкиной М.П., Блиновой С.М., Устиговой Е.С.; МАУ ГКБ № 40, Екатеринбург – Паниной Е.Ю.; МБУ ДГКБ № 11 Екатеринбург – Кочневой Н.А.; МУЗ ДГБ № 1, Нижний Тагил – Водовоз Н.Ю.; ГБУЗ СО ГБ № 7 Каменск-Уральск – Муруновой Н.В.; ГБУЗ СО ДГБ город Асбест – Груздеву А.И.

ЛИТЕРАТУРА

- Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Блинова С.М. и др. Этиологическая значимость микроскопического исследования мокроты у детей с острой и хронической бронхолегочной патологией // Вестн. Урал. мед. акад. науки. – 2011. – Т. 36, № 3. – С. 84–88.
- Гольдштейн А.В. Вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции. Бюл. «Вакцинация» / Бронхолегоч. забол. – 2004. – № 2. – С. 30–35.
- Катосова Л.К., Сидорина Т.М., Батура А.П. и др. Серотипы *Streptococcus pneumoniae* у детей, больных хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания // Журн. микробиол. – 1990. – №2. – С. 32–37.
- Катосова Л.К., Таточенко В.К., Арова А.А. и др. Серотипы *Streptococcus pneumoniae* у детей, больных острой пневмонией и плевритом // Журн. микробиол. – 1990. – № 5. – С. 23–28.
- Козлов Р.С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее. – Смоленск, 2005.
- Козлов Р.С., Чагарян А.Н., Козлова Л.В. и др. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2011. – Т. 13, №2. – С. 177–187.
- Мартынова А.В. Эпидемиологические аспекты пневмококковых инфекций и молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae*. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2008.
- Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология. Руководство. – Н. Новгород, 2006.
- Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Катосова Л.К. и др. Определение капсульных серотипов пневмококка методом мультиплексной ПЦР // Вопр. диагн. в педиатр. – 2010. – Т. 2, № 6. – С. 6–10.
- Миронов О.К., Платонов А.Е., Козлов Р.С. Идентификация и серотипирование российских штаммов *Streptococcus pneumoniae* с применением методик, основанных на ПЦР / Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 304–313.
- МР 3.3.1.0027–11 «Эпидемиология и вакцинопрофилактика инфекции, вызываемой *Streptococcus pneumoniae*». – М., 2011.
- Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ: приказ МЗ СССР №535 от 22.04.85. – М., 1985.
- Покровский В.И., Брико Н.И., Ряпис Л.А. Стрептококки и стрептококкозы. – М., 2006.
- Рыжов А.А. Вакцины «Pneumo-23» и «Act-NiB» в профилактике и лечении хронических заболеваний легких у детей. Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004.
- Ряпис Л.А., Брико Н.И. Проблема пневмококковых инфекций в России / Эпидемиол. и инфекц. бол. – 2010. № 1. – С. 4–8.
- Таточенко В.К. Клинические проявления пневмококковой инфекции в разных возрастных группах // Бюл. «Вакцинация»/ Пневмокок. инфекц. – 2009. – № 2. – С. 3–7.
- Таточенко В.К., Катосова Л.К., Уланова М.А. и др. Периодические и географические различия серотипового спектра пневмококков у детей с респираторными заболеваниями и здоровых носителей // Журн. микробиол. 1994. – № 3. – С. 3–10.
- Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: методические указания 4.2.2039–05. М., 2005.
- Brito D.A., Ramirez M., Lencastre H. Serotyping *Streptococcus pneumoniae* by Multiplex PCR // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, N 6. – P. 2378–2384.
- Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. 7 th ed. – Atlanta, 2002. – P. 205–217.
- Centers for disease control and prevention. PCR Deduction of Pneumococcal Serotypes, October 2009. Serotype distribution of invasive pneumococcal disease isolates among children < 5 years of age, Active Bacterial Core surveillance areas, 2008 vs. 1998–1999. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/pcr.htm>.
- Centers for disease control and prevention. PCR Deduction of Pneumococcal Serotypes, June 2011. Serotype-specific IPD in children < 5yrs during 2005–2009, Active Bacterial Core surveillance data. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/pcr.htm>.
- Chang C.C., Singleton R.J., Morris P.S. et al. Pneumococcal vaccines for children and adults with bronchiectasis // Cochrane Database Syst. Rev. – 2009. – Vol. 15, N 2. – CD006316.
- Mackenzie G.A., Leach A.J., Carapetis J.R. et al. Epidemiology of nasopharyngeal carriage of respiratory bacterial pathogens in children and adults: cross-sectional surveys in population with high rates of pneumococcal disease // BMC Infect. Dis. – 2010. – Vol. 10. – P. 304–314.
- Prevention of pneumococcal diseases among infants and young children using a pneumococcal conjugate vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) // Morbidity and Mortality Wkly Rep. – 2000. – Vol. 49, RR09. – P. 1–38.
- Robinson K.A., Baughman W., Rothrock G. et al. Epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* infections in the United States, 1995–1998. Opportunities for prevention in the conjugate vaccine era // J. A. M. A. – 2001. – Vol. 285. – P. 1729–1735.
- Zangwill K.M., Vadheim C.M., Vannier A.M. et al. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in Southern California: implications for design and conduct of a pneumococcal conjugate vaccine trial // J. Infect. Dis. – 1996. – Vol. 174. – P. 752–759.

Поступила 16.04.12

Сведения об авторах:

Друй Александр Евгеньевич, очный аспирант каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии УГМА, врач клин. лаб. диагностики лаб. молекулярной биологии Центра детской онкологии и гематологии ОДКБ № 1, мл. науч. сотр. лаб. клеточной терапии онкогематологических заболеваний ИМКТ, e-mail: Dr-Drui@yandex.ru; **Цаур Григорий Анатольевич**, канд. мед. наук, зав. лаб. молекулярной биологии Центра детской онкологии и гематологии ОДКБ № 1, вед. науч. сотр. лаб. клеточной терапии онкогематологических заболеваний ИМКТ; e-mail: tsaur@mail.ru; **Боронина Любовь Григорьевна**, д-р мед. наук, проф. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии УГМА, зав. лаб. клин. микробиологии ОДКБ № 1, e-mail: boroninalg@mail.ru