

Современное состояние проблемы капсульного типирования *Streptococcus pneumoniae*

*Ю. А. ЗАХАРОВА¹, В. Г. АКИМКИН², Е. В. НИКИТИНА³,
И. А. ИВАЩЕНКО¹, Е. В. БОЛГАРОВА¹, Е. В. АЛЕКСАНДРОВА⁴,
С. М. СКРИПКОВСКАЯ³

¹ Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

² ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

³ ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

Current State of the *Streptococcus pneumoniae* Capsular Typing Problem

*YULIYA A. ZAKHAROVA¹, VASILIIY G. AKIMKIN², EKATERINA V. NIKITINA³,
IVAN A. IVASHCHENKO¹, EKATERINA V. BOLGAROVA¹, EKATERINA V. ALEKSANDROVA⁴,
SVETLANA M. SKRIPKOVSKAYA³

¹ Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections «Vector» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russia

² Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia

³ Children's Scientific Clinical Center of Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

⁴ Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Болезни, вызываемые *Streptococcus pneumoniae*, для систем здравоохранения всех ведущих стран мира являются серьёзной медико-социальной проблемой. В связи с этим возрастает актуальность их лабораторной диагностики, от этого зависит эффективность лечебных, профилактических и противоэпидемических мероприятий. В настоящее время отсутствует универсальный способ внутривидовой идентификации *S. pneumoniae*, обладающий одновременно высокой специфичностью, чувствительностью и воспроизводимостью. В этой связи разрабатываются новые стратегии, направленные на повышение качества исследований. В обзоре представлены данные отечественных и зарубежных научных публикаций (поисковые электронные базы eLibrary.ru, ScienceDirect, Scopus, PubMed, Springerlink) о проведении серотипирования и генотипирования *S. pneumoniae*, проанализированы их преимущества и недостатки. Выявлены эпидемически значимые серотипы и распространённые клональные комплексы *S. pneumoniae*, циркулирующие на территории Российской Федерации. Признана необходимость совершенствования новых методов внутривидового типирования возбудителя.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*; серотипы; ПЦР; мультилокусное секвенирование-типирование; внутривидовая идентификация

Для цитирования: Захарова Ю. А., Акимкин В. Г., Никитина Е. В., Иващенко И. А., Болгарова Е. В., Александрова Е. В., Скрипковская С. М. Современное состояние проблемы капсульного типирования *Streptococcus pneumoniae*. Антибиотики и химиотер. 2022; 67: 9–10: 69–78. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-9-10-69-78>.

Abstract

Diseases caused by *Streptococcus pneumoniae* are a serious medical and social problem for healthcare systems of all leading countries around the globe. In this regard, the relevance of their laboratory diagnostics increases, as the effectiveness of therapeutic, preventive, and anti-epidemic measures depends on it. Currently, there is no universal method of intraspecific identification of *S. pneumoniae*, which simultaneously possess high specificity, sensitivity, and reproducibility. For this purpose, new alternative strategies aimed at improving the quality of research are being developed. The review presents data from domestic and foreign publications (electronic search databases eLibrary.Ru, ScienceDirect, Scopus, PubMed, Springerlink) on serotyping and genotyping of *S. pneumoniae*; the advantages and disadvantages of the methods are analyzed. Epidemiologically significant serotypes and widespread clonal complexes of *S. pneumoniae* circulating on the territory of the Russian Federation have been identified. The necessity of improving new methods of intraspecific typing of the pathogen is recognized.

© Коллектив авторов, 2022

*Адрес для корреспонденции: ул. Летняя, д. 23, Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций, г. Екатеринбург, Россия, 620030. E-mail: zakharova_ya@eniivi.ru

© Team of Authors, 2022

*Correspondence to: 23 Letnyaya st., Yekaterinburg, Russia, 620030. E-mail: zakharova_ya@eniivi.ru

Введение

Инфекции, вызываемые *Streptococcus pneumoniae*, являются актуальной медицинской проблемой во многих регионах мира. Пневмококковая пневмония — ведущая причина заболеваемости и смертности населения от воспалительных заболеваний нижних отделов дыхательных путей [1]. Только в России ежегодно число случаев пневмоний превышает 600 тыс. Особую значимость пневмококковая инфекция представляет для детей в возрасте до 5 лет, пожилых лиц старше 65 лет и для пациентов с хроническими заболеваниями органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, функциональной или анатомической аспленией, сахарным диабетом, иммунодефицитами и др. [2–5]. В связи с этим снижение заболеваемости и смертности от пневмококковой инфекции является важной социально-экономической задачей [6]. Одна из серьёзных проблем в борьбе с пневмококковой инфекцией состоит в сложности выделения, идентификации и типирования возбудителя.

Практическая важность типирования пневмококков резко возросла после начала массовой иммунизации различных групп населения полисахаридными и конъюгированными вакцинами, протективное действие которых основано на индукции бактерицидных антител к капсульным полисахаридам микроорганизма. В конъюгированных вакцинах полисахариды связаны с белками-носителями, что существенно повышает их иммуногенность. На сегодняшний день известно более 100 антигенных вариантов капсульных полисахаридов (серотипов) [7–9], очевидно, что создать вакцину, включающую все известные полисахариды, крайне сложно. Доступные полисахаридные вакцины включают 23 серотипа, а конъюгированные — до 20, разрабатываются вакцины ещё большей валентности. В вакцины включают полисахариды серотипов, играющих основную роль в патологии человека. Некоторые из них характеризуются выраженными вирулентными свойствами и ассоциируются с определёнными клиническими формами. Так, серотипы 3 и 14, чаще вызывают пневмонии и плевриты с деструкцией лёгочной ткани [10, 11], серотипы 3 и 19F — острый средний отит у детей. Фактором, существенно осложняющим формирование и реализацию программ антипневмококковой вакцинации, является вариабельность серотипового состава популяций пнев-

мококков, циркулирующих в отдельных географических регионах. Более того, серотиповой состав пневмококковых популяций меняется в ответ на вакцинацию населения, в силу различных механизмов происходит вытеснение из циркуляции «вакцинных» серотипов и распространение «невакцинных». Приведённые факты однозначно доказывают необходимость проведения постоянного наблюдения за серотиповым составом популяций пневмококков, циркулирующих на всей территории Российской Федерации и критическую важность наличия эффективных, надёжных и доступных методов определения их серотиповой принадлежности.

История серотипирования пневмококка

Streptococcus pneumoniae, пневмококк, был открыт независимо Л. Пастером и Д. М. Штернбергом в 1881 г., и вскоре после этого был признан основным возбудителем пневмонии. Для лечения пациентов с пневмококковой пневмонией была предложена иммунная сыворотка. Исследования сывороток пациентов в фазе выздоровления показали серологическую гетерогенность пневмококков. Дополнительные исследования, проведённые в начале XX в., выявили большое количество серологических групп и установили, что иммунная защита против пневмококка в первую очередь зависит от серотипа возбудителя [12].

Серотип-специфичные антисыворотки широко использовались для лечения пациентов в начале XX в., однако были доступны не для всех серотипов, по этой причине — не всегда эффективны, иллюстрацией чему явилась смерть датского принца Вальдемара в 1939 г. У него была обнаружена пневмококковая пневмония, вызванная микроорганизмом серогруппы 9, но пациент не реагировал на лечение антисыворотками 9L и 9N. Дополнительные исследования после его смерти показали, что пневмония была вызвана новым серотипом в серогруппе 9, который затем был назван 9V в его честь [13]. Случай принца Вальдемара свидетельствовал о необходимости точного дифференцирования пневмококков внутри серогруппы. Для повышения эффективности терапии антисыворотками были разработаны процедуры серотипирования, общепринятым стал метод, основанный на реакции набухания капсулы (Quellung reaction), предложенный в 1902 г. немецким микробиологом и иммунологом Ф. Нейфельдом, и до

сих пор остающийся «золотым стандартом» серотипирования пневмококка.

Исследования в Дании привели к созданию системы классификации серотипов пневмококка, серотип был определён как штаммы пневмококка, продуцирующие капсульный полисахарид с уникальными химической структурой и серологическими (иммунологическими) свойствами. Серогруппа была определена как включающая серотипы, которые имеют много общих серологических свойств (например, перекрёстнореактивные антитела) [12].

Появление антибиотиков и высокая чувствительность пневмококков к пенициллину сняли актуальность серотипирования пневмококков. Однако с развитием вакцинации и вызванным ею эффектом замены серотипов, а также с увеличением числа антибиотикорезистентных штаммов, серотипирование пневмококков вернулось на передний план клинического интереса. До тех пор, пока пневмококковые вакцины основаны на капсульных полисахаридах, будет существовать потребность в методах определения типов капсул пневмококка [12].

Серологические методы

Метод Нейфельда основан на том, что при добавлении к взвеси бактерий сыворотки, содержащей антитела против капсульных полисахаридов данного серотипа пневмококка, происходит резкое увеличение (набухание) капсулы, которое хорошо видно под микроскопом. При разработке новых методов типирования стандартизацию проводят с использованием именно этой реакции [10, 14]. К основным недостаткам метода относят его трудоёмкость и дороговизну антисывороток, выпускаемых Датским институтом сывороток (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark). Метод Нейфельда был значительно упрощён путём разработки 12 пуловых сывороток, специфические свойства которых перекрываются в шахматном порядке, что позволяет идентифицировать серотип неизвестного изолята, используя всего 12 реагентов [15]. Однако этот метод оставался медленным и трудоёмким, и продолжался поиск новых подходов, из которых весьма успешным оказался метод латекс-агглютинации с использованием латексных частиц, покрытых кроличьей антикапсулярной антисывороткой [16, 17]. Очень удачная версия метода латекс-агглютинации была разработана путём покрытия одного типа латексных частиц пулированной кроличьей антисывороткой, распознающей несколько серотипов/серогрупп, и придания специфичности каждому типу частиц в шахматном порядке. Этот тест, называемый Pneumotest-Latex, является быстрым и простым в использовании [18].

В 2003 г. М. А. Mudany и соавт. [19] оценили эффективность нового набора типирования Denka для 285 штаммов *S. pneumoniae*. Набор состоит из 8 пуловых сывороток, 40 групповых сывороток, 41 специфической сыворотки. Для данного набора проводится реакция агглютинации на предметном стекле. Метод показал себя быстрым (5 мин вместо 15 мин реакции Нейфельда), дешёвым, простым в исполнении, не требующим дополнительного оборудования. Он характеризуется высокой специфичностью и чувствительностью. К некоторым ограничениям можно отнести сложность определения серотипов у дефектных штаммов, необходимость выделения чистой культуры. Возможно получение ложного отрицательного результата при слабой экспрессии капсулы или её утрате. Кроме того, три диагностические сыворотки в наборе не обладают типоспецифичностью вследствие гетерогенных перекрестных реакций, что может привести к неверной идентификации серотипа [18]. В ряде исследований [20–22] была показана возможность применения метода латекс-агглютинации для серотипирования пневмококка непосредственно в клинических образцах из стерильных в норме локусов (кровь, ликвор).

В 2010 г. С. L. Sheppard и соавт. [22] предложили метод определения серотип-специфичных антигенов в моче, позволяющий детектировать 15 серотипов *S. pneumoniae* (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F, 23F и 33F), входящих в ПКВ-15 (Merck). Метод (SSUAD — ST-specific urine antigen detection) основан на использовании серотип-специфичных моноклональных антител с применением микрофлюидной системы Lumineх, при этом применяются магнитные шарики Lumineх, что позволяет автоматизировать этапы промывки и повысить пропускную способность анализа. В своей работе авторы продемонстрировали, что метод является точным, высокочувствительным и специфичным и пригоден для выявления серотип-специфичных полисахаридов пневмококка в моче взрослых в ходе проведения эпидемиологических исследований и клинических испытаний. Применение метода лимитировано ограниченным набором серотипов, которые можно определять с его помощью.

W. V. Kalina и соавт. [23] расширили спектр серотипов, определяемых с помощью моноклональных антител в моче, разработав тест (UAD2) для идентификации 11 дополнительных серотипов пневмококка, 7 из которых входят в вакцину PCV20 (8, 10A, 11A, 12F, 15B, 22F и 33F), а 4 являются невакцинными (2, 9N, 17F и 20). R. Isturiz и соавт. [24] при помощи указанной методики изучили распределение серотипов пневмококка у взрослых в возрасте старше 18 лет, госпитали-

зированных с рентгенологически подтвержденной внебольничной пневмонией в США, и выявили значительную долю пациентов, у которых были обнаружены серотипы, входящие только в PCV 20. К аналогичному выводу пришли исследователи, изучавшие распределение серотипов *S.pneumoniae* при помощи тестов UAD1 (на серотипы PCV13)/UAD2 у пациентов с внебольничной пневмонией в Испании [25].

Следует отметить, что данный метод исследования применяется для взрослых пациентов, притом, что основной группой риска развития пневмококковой инфекции являются дети младшего возраста.

Генотипические методы

Типирование на основе ПЦР. При выполнении научно-исследовательских работ широкое применение нашёл метод типирования *S.pneumoniae* на основе полимеразной цепной реакция (ПЦР). Способ позволяет идентифицировать капсульные серотипы *S.pneumoniae* не только в «чистой» культуре, но и в исходном биологическом материале. Метод основан на идентификации последовательностей *cps*-локусов, в которых локализованы гены *S.pneumoniae*, ответственные за синтез капсульных полисахаридов. Их синтез может осуществляться Wzy-зависимым или synthase-зависимым путём. Последний характерен только для 3-го и 37-го серотипов. Генетические отличия между *cps*-локусами различных серогрупп и серотипов *S.pneumoniae* детально изложены в работе S. D. Bentley и соавт. [26]. При ПЦР-типировании проводится детекция генов-мишеней *S.pneumoniae*, например, *wzy*, *wzx*, *galU*, *wciP*, *wciN*, *wciW* [27]. В работе R. Pai и соавт. [28] авторы представили схему типирования *S.pneumoniae* на основе мультиплексной ПЦР, где стоимость одного исследования составляла от 2 до 5 долларов (для сравнения при типировании антисыворотками — 28 долларов). Капсульное ПЦР-типирование осуществляют в несколько этапов, их выполняют последовательно. Вначале проводят скрининг исследуемых образцов на присутствие ДНК пневмококка, мишенью является ген *lytA*, кодирующий аутолизин.

На проблеме обнаружения ДНК пневмококка методом ПЦР стоит остановиться более подробно. Протокол детекции *S.pneumoniae* по гену *lytA* рекомендован Centers for Disease Control and Prevention [29] (обновлен в июне 2021 г.) на основе работы M. da G. Carvalho и соавт. [30]. В обзоре A. J. Blaschke [31] автор делает вывод, что аутолизин специфичен для *S.pneumoniae*, и использование этой мишени может решить проблемы неправильной идентификации. Тем не менее, были предложены и другие мишени для ПЦР-обнару-

жения пневмококка. Н. К. Park и соавт. [32] с этой целью использовали специфичный для *S.pneumoniae* ген, кодирующий биосинтез капсульных полисахаридов (*cpsA*), и показали, что данный ген позволяет проводить определение *S.pneumoniae* с высокими показателями чувствительности и специфичности. Однако E. Sadowy и соавт. [33] отметили, что аллели *cpsA* пневмококковых серотипов 25A, 25F и 38 слишком отличаются от типичных пневмококковых генов *cpsA*, чтобы дать положительные результаты в этой ПЦР, и такие проблемы могут возникнуть в случае некоторых новых серотипов. К тому же функциональные локусы *cps*, включая консервативные гены *cpsABCD*, наблюдались у ряда видов стрептококков *Mitis*, что указывает на низкую полезность мишени *cpsA* для различения *S.pneumoniae* и других представителей группы *Mitis*.

A. L. S. Lang и соавт. [34] предложили использовать две специфичные для пневмококка ПЦР-мишени (*lytA* и *cpsA*) для уменьшения вероятности ложноположительных результатов. Также для детекции ДНК пневмококка успешно использовали SP2020 — предположительно, ген-регулятор транскрипции [35]. В работах последних лет, посвящённых данной проблеме [36, 37], высказывается предположение, что использование комбинации нескольких выбранных мишеней значительно повышает вероятность правильной идентификации пневмококка с помощью ПЦР. Полногеномные исследования на современном этапе значительно улучшили наше понимание взаимоотношений внутри группы стрептококков *Mitis*, и они также помогут лучше определить мишени для быстрого, экономичного и специфичного выявления *S.pneumoniae* и других стрептококков *Mitis* [36].

Образцы, в которых выявлена ДНК пневмококка, тестируют в мультиплексных ПЦР с праймерами, охватывающими наиболее часто встречаемые серотипы и серогруппы *S.pneumoniae* (как правило, используемые в вакцинах). При этом учитывают возможность комбинировать праймеры в одном мультиплексе [28, 27]. При проведении типирования *S.pneumoniae* в РФ на начальном этапе выделения ДНК обычно применяют наборы «АмплиСенс ДНК-сорб Б» (ИнтерЛабСервис, Россия), «QIAamp DNA Mini Kit» (QiaGen, Нидерланды), для последующих этапов — реагенты производства «Евроген» (Россия), «Синтол» (Россия).

На ресурсе Centers for Disease Control and Prevention [9] приведены нуклеотидные последовательности специфических праймеров и методики определения сорока одного серотипа *S.pneumoniae* (преимущественного циркулирующих в США, Латинской и Южной Америке, Африке и Азии) с использованием мультиплексной ПЦР. Отмеча-

ется, что неточный результат чаще определяют при типировании 25-го и 38-го серотипов, в некоторых случаях 14-го и 35А. Указанные методики рассчитаны на использование электрофоретического разделения продуктов амплификации в агарозном геле. Там же представлены схемы постановки семи триплексных ПЦР в режиме Real Time, которые отличаются меньшим количеством этапов. Также на сайте Centers for Disease Control and Prevention [9] со ссылкой на статью S. Velusamy и соавт. [38] дана методика типирования 64 серотипов *S. pneumoniae*. Авторы разработали схему последовательных квадриплексных Real Time ПЦР, позволяющую идентифицировать серотипы внутри серогруппы 6, 22 и 7. Крупные гомологичные группы ими были разделены на более мелкие. Так, группа 12F/12A/12B/44/46 была разделена на подгруппы 12F/44 и 12A/12B/46, а группа 33A/33F/37 — на 33A/33F и 37. Указано, что использование ПЦР для исследования биоматериала, полученного от носителей *S. pneumoniae*, может привести к получению сомнительных результатов. Так, обнаружена возможность амплификации некоторых специфических для *S. pneumoniae* мишеней при серотипировании *S. mitis*, *S. oralis*, *S. parasanguis* и *S. gordonii* [39].

В исследовании M. Antonio и соавт. [40] приводятся данные об эффективности методов ПЦР и латекс-агглютинации. Проанализировано 279 изолятов, установлено, что при использовании метода латекс-агглютинации идентифицировать серотипы удалось в 218 случаях, при использовании ПЦР — в 184, комплексное исследование выявило 249 положительных результатов. Авторы пришли к выводу, что оба метода целесообразно рассматривать как взаимодополняющие. Отмечено, что эффективность метода ПЦР коррелирует с нагрузкой бактериальной культуры в образце.

Е. В. Никитина и соавт. в работе 2021 г. [41] отмечали снижение эффективности метода капсульного ПЦР-серотипирования *S. pneumoniae* за 5 лет со 100% в 2016 г. до 41,6% в 2021 г. Авторы пришли к выводу о необходимости совершенствования протокола исследования и предложили для повышения эффективности начинать типирование с наиболее распространенных вариантов, циркулирующих на изучаемой территории. Так, серотипы 2, 5 предполагается исключить из протокола в связи с практически полным их исчезновением из циркуляции на территории РФ, а серотипы 10А, 15BC, 28АF, 31 — напротив, включить в протокол.

Если снижение частоты встречаемости серотипов, входящих в используемый протокол капсульного ПЦР-типирования, можно установить при его непосредственном применении, то для выявления серотипов, которые не охвачены про-

токолом и стали встречаться чаще, необходимо использовать другие методы. Авторы применяли метод капсульного сиквенс-типирования, о котором будет сказано ниже.

Таким образом, к преимуществам метода ПЦР-типирования можно отнести относительную дешевизну, возможность проведения реакции непосредственно из биологического материала (без выделения чистой культуры), сопоставимость с результатами латекс-агглютинации. К недостаткам — меньший охват серотипов (относительно Quellung reaction и латекс-агглютинации), необходимость специального оборудования [39].

В связи с широким внедрением вакцинации от пневмококковой инфекции и сменой циркулирующих серотипов серьёзного рассмотрения требует проблема снижения эффективности представленных выше методов типирования и разработка новых.

Капсульное сиквенс-типирование. В основе метода лежит секвенирование фрагмента генома методом Сэнгера. Типирование *S. pneumoniae* по нуклеотидной последовательности капсульного гена *cpsB* было предложено М. Н. Leung и соавт. [42]. Метод применим к изолятам пневмококка и позволяет из 91 референсного штамма (коллекция SSI) 59 определить с точностью до серотипа и 32 — до гомологичных групп.

В 2017 г. метод был усовершенствован G. Nagaraj и соавт. [43] и получил название «PCRSeqTyping». При реализации способа авторы предлагают известные 91 серотип *S. pneumoniae* разделить на две группы: 59 — «негомологичных» и 32 — «гомологичных». Группу «гомологичных» серотипов предлагают разделить на 10 подгрупп. Серотипы определяют с использованием второго раунда ПЦР с групповыми и индивидуальными специфическими праймерами и последующим секвенированием полученных ампликонов. Данные нуклеотидных последовательностей анализируют в базе данных GenBank. Авторы способа «PCRSeqTyping» доказывают его высокую эффективность на примере безошибочного определения серотипов у 91 эталонного штамма и 28 клинических изолятов. Способ является технологичным, надёжным, экономичным и гибким, поскольку позволяет включать в ход исследований дополнительные праймеры при определении новых серотипов.

MLST. Важным в изучении эволюции и распространения актуальных штаммов *S. pneumoniae* является метод мультилокусного сиквенс-типирования (MLST), который основан на секвенировании нуклеотидных последовательностей локусов «домашнего хозяйства», не кодирующих факторы вирулентности и патогенности *S. pneumoniae*, но отвечающих за метаболизм микроорганизма. Для реализации метода выбраны 7 аллелей генов «до-

машинного хозяйства» (*aroE*, *ddl*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi* и *xpt*), их комбинация определяет сиквенс-тип *S. pneumoniae* с присвоением уникального номера и позволяет выявить связи между типизируемыми изолятами на отдельных территориях [44]. Данные о последовательностях накапливаются в единой базе данных PubMLST, доступной в сети Интернет. В базе обозначены специфические праймеры и описана методика ПЦР-амплификации. Альтернативные праймеры для определения генов *aroE*, *ddl*, *recA*, *spi* и *xpt* находятся на сайте Centers for Disease Control and Prevention. В линейке нуклеотидных последовательностей они расположены на 40 оснований выше последовательностей, изучаемых при стандартном MLST-типировании. В работе используют наборы «ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit» («Applied Biosystems», США). Для интерпретации результатов применяют специальные электронные компьютерные программы, в их числе «START 0.9.0», «START2», «goeBURST 1.2.1», «EditSeq 4.03», «SeqMan II 4.03». К недостаткам метода относят высокую экономическую составляющую [44, 45]. Применение метода MLST даёт возможность выявить отдельные клональные линии *S. pneumoniae* и оценить их эпидемиологическую значимость [46–49]. Метод применяют с целью своевременной идентификации как известных, так и вновь выявляемых генетических вариантов *S. pneumoniae*. Результаты MLST в совокупности с эпидемиологическими характеристиками (год, место, источник выделения) могут быть использованы для объединения и сопоставления данных, полученных в географическом масштабе. Следует учитывать, что сиквенс-типы *S. pneumoniae* могут обладать различными серотипами (фенотипической вариабельностью), что обусловлено процессами эволюции возбудителя, происходящими в его многочисленной популяции [50–53]. Так, на фоне активной иммунизации ПКВ-13 (пневмококковой конъюгированной 13-валентной вакциной) R. Kaug и соавт. [54] отмечают существенное снижение распространения штаммов серотипа 19A с одновременным увеличением встречаемости серотипов 35B, 23B, 21 и 15ABC. При этом доля штаммов генетического профиля ST199, который ассоциировался с серотипом 19A, оставалась неизменной.

В исследовании К. О. Миронова и др., 2018–2020 гг. [46, 55], проведённом на территории РФ при инвазивных и неинвазивных формах пневмококковой инфекции, отмечено формирование штаммов серотипа 3 единой клональной линии ccST505, включающей сиквенс-типы ST-180, ST-505 и ST-2049, ST-15250, ST15251 с центральным сиквенс-типом ST505. Большая часть штаммов принадлежала к сиквенс-типам ST-180 и ST-505. Примечательно, что штаммы, выделенные при инва-

зивных формах пневмококковой инфекции, имели сиквенс-тип ST-180, при неинвазивных формах — ST-505.

В работе Т. А. Савиновой и др. [48] установлена высокая корреляция между клональным комплексом CC81 (со сниженной чувствительностью к пенициллину) и серотипом 23F. При этом все штаммы 23F соответствовали ST81. В свою очередь, описаны случаи переключения CC81 на серотипы 14, 19A и 19F [56]. Продемонстрирована связь между клональным комплексом CC271 (с сиквенс-типами ST236, ST271, ST651) и серотипом 19F.

В исследовании И. А. Цветковой и др. [57], посвящённом изучению генетической структуры *S. pneumoniae* на территории РФ, отмечено, что одними из распространённых клональных комплексов являются CC81, CC505, CC180 и клональный кластер SC2. Последний был сопоставим с референсным клоном Taiwan19F-14 (ST236), а также с сиквенс-типами ST271 и ST320. Данный кластер преимущественно соответствовал серотипам 19F и 19A. Отмечено распространение кластера SC4, ассоциированного с ST81 и серотипом 23F. Связь между серотипом 19F и сиквенс-типом ST236 выявлена в исследовании Г. В. Белошицкого и др. [58]. Таким образом, в современных литературных источниках [46, 48, 55, 57, 58] авторы прослеживают определённую зависимость между рядом актуальных серотипов и сиквенс-типов *S. pneumoniae*. К ним относят часто встречаемые на территории РФ серотипы 3, 6B, 14, 19F, 23F [2, 46, 55, 59–63] и клональные комплексы CC81, CC236, CC505, CC180, CC315, CC239, CC663, CC230, CC143, CC1025, CC2296 [57].

Полногеномное секвенирование. В настоящее время в лабораторную практику входит метод полногеномного секвенирования, который предоставляет исчерпывающую информацию не только о специфическом *cps*-локусе *S. pneumoniae*, но и о других локусах его «основного» генома. В ряде работ, посвящённых использованию данного метода, авторы безошибочно идентифицировали серотипы всех (100%) исследуемых образцов [15, 59, 64]. К недостаткам метода относили его высокую стоимость и необходимость приобретения высокотехнологичного оборудования [46, 55].

Заключение

Таким образом, разработка и внедрение лабораторных стратегий, направленных на повышение качества внутривидового типирования *S. pneumoniae*, актуального бактериального патогена, являются приоритетом в решении молекулярно-биологических и эпидемиологических задач на современном этапе борьбы с пневмококковой инфекцией, поскольку несут в себе значимый потенциал в изучении новых факторов ви-

рулентности, патогенности и антибиотикорезистентности возбудителя. С решением данной проблемы становится возможным более глубокая оценка филогенетических связей внутри циркулирующей микробной популяции и, как следствие, грамотное обоснование противоэпидемических и профилактических мероприятий, включая вакцинопрофилактику. Особую актуальность представляет поиск и анализ корреляционных связей

между серотиповым и сиквенс-типовым пейзажем *S.pneumoniae*.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование. Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 22-25-20129.

Литература/References

- GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborator. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and etiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18: 1191–1210. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30310-4.
- Голоднова С.О., Фельдблюм И.В., Семериков В.В., Николенко В.В., Захарова Ю.А. Распространённость носительства *Streptococcus pneumoniae* среди медицинских работников и оценка эффективности вакцинопрофилактики. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; 1 (74): 50–54. [Golodnova S.O., Feldblum I.V., Semerikov V.V., Nikolenko V.V., Zakharova Yu.A. The Prevalence of Carriage of *Streptococcus pneumoniae* among Medical Specialists and Evaluation of their Vaccination. *Iepidemiologija i Vakcinoprofilaktika*. 2014; 1 (74): 50–54. (in Russian)]
- Таточенко В.К. Пневмококковая инфекция: современный взгляд на проблему и профилактику. Вопросы современной педиатрии. 2007; 6 (1): 85–90. [Tatochenko V.K. Pneumococcal infection: modern view on the issue and prevention. *Current Pediatrics*. 2007; 6 (1): 85–90. (in Russian)]
- Брико Н.И., Цапкова Н.Н., Батыршина Л.Р., Коришунов В.А., Фельдблюм И.В., Бикмиева А.В., Субботина К.А., Филиппов О.В. Проблемы вакцинопрофилактики взрослого населения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17 (2): 4–15. <https://doi.org/10.24411-2073-3046-2018-10001>. [Briko N.I., Tsapkova N.N., Batyreshina L.R., Korshunov V.A., Feldblyum I.V., Bikmieva A.V. et al. Problems of vaccinal prevention in adult population. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018; 17 (2): 4–15. <https://doi.org/10.24411-2073-3046-2018-10001>. (in Russian)]
- Adegbola R.A., DeAntonio R., Hill P.C., Roca A., Usuf E., Hoet B. et al. (2014) Carriage of *Streptococcus pneumoniae* and Other Respiratory Bacterial Pathogens in Low and Lower-Middle Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2014; 9 (8): e103293. doi: 10.1371/journal.pone.0103293.
- Баранов А., Намазова Л., Таточенко В. Пневмококковая инфекция и связанные с ней заболевания — серьезная проблема современного здравоохранения. *Педиатрическая фармакология*. 2008; 5 (1): 7–12. [Baranov A., Namazova L., Tatochenko V. Pneumococcal infection and associated diseases — a serious problem of modern health care. *Pediatric Pharmacology*. 2008; 5 (1): 7–12. (in Russian)]
- Pimenta F, Moiane B., Gertz R.E., Chochua S., Snippes Vagnone P.M., Lynfield R. et al. New pneumococcal serotype 15D. *J Clin Microbiol*. 2021; 59: e00329-21. doi: 10.1128/JCM.00329-21.
- Ganaie F, Saad J.S., McGee L., van Tonder A.J., Bentley S.D., Lo S.W. et al. A new pneumococcal capsule type, 10D, is the 100th serotype and has a large cps fragment from an oral streptococcus. *mBio*. 2020; 11: e00937-20. doi: 10.1128/mBio.00937-20.
- Centres for disease Control and prevention. Pneumococcal disease. For Laboratorians. Available at: <https://www.cdc.gov/pneumococcal/laboratorians.html> Accessed June 2022.
- Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Катосова Л.К. Серотиповое разнообразие и резистентность пневмококков. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014; 7–8: 38–45. [Mayanskiy N.A., Alyabieva N.M., Lazareva A.V., Katosova L.K. Serotype Diversity and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae*. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2014; 7–8: 38–45. (in Russian)]
- Reinert R.R., Paradiso P., Fritzell B. Advances in pneumococcal vaccines: The 13-valent pneumococcal conjugate vaccine received market authorization in Europe. *Expert Rev Vaccines*. 2010; 9: 229–36. doi: 10.1586/ERV.10.6.
- Geno K.A., Gilbert G.L., Song J.Y., Skovsted I.C., Klugman K.P., Jones C., Konradsen H.B., Nahm M.H. 17 June 2015. Pneumococcal capsules and their types: past, present, and future. *Clin Microbiol Rev*. doi: 10.1128/CMR.00024-15.
- Vammen B. Serological variants of pneumococcus types 9 and 10. *J Immunol*. 1939; 37: 359–365.
- Sorensen U.B. Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera. *J Clin Microbiol*. 1993 Aug; 31 (8): 2097–100. doi: 10.1128/jcm.31.8.2097-2100.1993. PMID: 8370735; PMCID: PMC265703.
- Lafong A.C., Crothers E. Simple latex agglutination method for typing pneumococci. *J Clin Pathol*. 1988; 41: 230–231. doi: 10.1136/jcp.41.2.230.
- Skovsted I.C. Textbook in diagnosis, serotyping, virulence factors and Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for measuring pneumococcal antibodies. In: typing of *Streptococcus pneumoniae*. 4th Ed. SSI Diagnostica A/S. 2017; 47.
- Konradsen H.B. Validation of serotyping of *Streptococcus pneumoniae* in Europe. *Vaccine*. 2005; 23: 1368–1373. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.09.011.
- Porter B.D., Ortika B.D., Satzke C. Capsular Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* by Latex Agglutination. *J Vis Exp*. 2014; 91: e51747. doi: 10.3791/51747.
- Mudany M.A., Kikuchi K., Totsuka K., Uchiyama T. Evaluation of a new serotyping kit for *Streptococcus pneumoniae*. *J Med Microbiol*. 2003; 52 (11): 975–980. doi: 10.1099/jmm.0.05306-0.
- Singhal A., Lalitha M.K., John T.J., Thomas K., Raghupathy P., Jacob S., Steinhoff M.C. Modified latex agglutination test for rapid detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in cerebrospinal fluid and direct serotyping of *Streptococcus pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996 Jun; 15 (6): 472–477. doi: 10.1007/BF01691314. PMID: 8839641.
- Sanz J.C., Culebras E., Rios E., Rodríguez-Avil I., Wilhelmi I., Ramos B., Ordobás M., Picazo J.J. Direct serogrouping of *Streptococcus pneumoniae* strains in clinical samples by use of a latex agglutination test. *J Clin Microbiol*. 2010 Feb; 48 (2): 593–595. doi: 10.1128/JCM.01651-09. Epub 2009 Dec 9. PMID: 20007395; PMCID: PMC2815603.
- Sheppard C.L., Harrison T.G., Smith M.D., George R.C. Development of a sensitive, multiplexed immunoassay using xMAP beads for detection of serotype-specific *Streptococcus pneumoniae* antigen in urine samples. *J Med Microbiol*. 2011 Jan; 60 (Pt 1): 49–55. doi: 10.1099/jmm.0.023150-0. Epub 2010 Sep 23. PMID: 20864547.
- Kalina W.V., Souza V., Wu K. et al. Qualification and clinical validation of an immunodiagnostic assay for detecting 11 additional *Streptococcus pneumoniae* serotype-specific polysaccharides in human urine. *Clin Infect Dis*. 2020; 71: e430–8.
- Isturiz R., Grant L., Gray S., Alexander-Parrish R., Jiang Q., Jodar L., Peyrani P., Ford K.D., Pride M.W., Self W.H., Counselman E., Volturo G., Ostrosky-Zeichner L., Wunderink R.G., Sherwin R., Overcash J.S., File T., Ramirez J. Expanded analysis of 20 pneumococcal serotypes associated with radiographically confirmed community-acquired pneumonia in hospitalized US adults. *Clin Infect Dis*. 2021 Oct 5; 73 (7): 1216–1222. doi: 10.1093/cid/ciab375. PMID: 33982098; PMCID: PMC8492118.
- Torres A., Menéndez R., España P.P., Fernández-Villar J.A., Marimón J.M., Cilloniz C., Méndez R., Egurrola M., Botana-Rial M., Ercibengoa

- M., Méndez C., Cifuentes I., Gessner B.D.; CAPA Study Group. The evolution and distribution of pneumococcal serotypes in adults hospitalized with community-acquired pneumonia in Spain using a serotype-specific urinary antigen detection test: the CAPA study, 2011–2018. *Clin Infect Dis*. 2021 Sep 15; 73 (6): 1075–1085. doi: 10.1093/cid/ciab307. PMID: 33851220; PMCID: PMC8442776.
26. Bentley S.D., Aanensen D.M., Mavroidi A., Saunders D., Rabinowitz E., Collins M. et al. Genetic analysis of the capsular biosynthetic locus from all 90 pneumococcal serotypes. *PLoS Genet*. 2006; 2 (3): e31. doi: 10.1371/journal.pgen.0020031.
27. Pimenta F.C., Roundtree A., Soysal A., Bakir M., du Plessis M., Wolter N. et al. Sequential triplex real-time PCR assay for detecting 21 pneumococcal capsular serotypes that account for a high global disease burden. *J Clin Microbiol*. 2013; 51 (2): 647–652.
28. Pai R., Gertz R.E., Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol*. 2006; 44 (1): 124–131. doi: 10.1128/JCM.44.1.124-131.2006.
29. Centres for disease Control and prevention. Pneumococcal disease. Resources and Protocols. Available at: https://www.cdc.gov/streplab/pneumococcus/resources.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fstreplab%2Fprotocols.html Accessed June 2022.
30. Carvalho M. da G., Tondella M.L., McCaustland K., Weidlich L., McGee L., Mayer L.W., Steigerwalt A., Whaley M., Facklam R.R., Fields B., Carlone G., Ades E.W., Dagan R., Sampson J.S. Evaluation and improvement of real-time PCR assays targeting *lytA*, *ply*, and *psaA* genes for detection of pneumococcal DNA. *J Clin Microbiol*. 2007 Aug; 45 (8): 2460–2466. doi: 10.1128/JCM.02498-06. Epub 2007 May 30. PMID: 17537936; PMCID: PMC1951257.
31. Blaschke A.J. Interpreting assays for the detection of *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis*. 2011 May; 52 Suppl 4 (Suppl 4): S331–7. doi: 10.1093/cid/cir048. PMID: 21460292; PMCID: PMC3069982.
32. Park H.K., Lee H.J., Kim W. Real-time PCR assays for the detection and quantification of *Streptococcus pneumoniae*. *FEMS Microbiol Lett*. 2010 Sep 1; 310 (1): 48–53. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02044.x.
33. Sadowy E., Hryniewicz W. Identification of *Streptococcus pneumoniae* and other *Mitis* streptococci: importance of molecular methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Dec; 39 (12): 2247–2256. doi: 10.1007/s10096-020-03991-9. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32710352; PMCID: PMC7669753.
34. Lang A.L.S., McNeil S.A., Hatchette T.F., Elsharif M., Martin I., LeBlanc J.J. Detection and prediction of *Streptococcus pneumoniae* serotypes directly from nasopharyngeal swabs using PCR. *J Med Microbiol*. 2015 Aug; 64 (8): 836–844. doi: 10.1099/jmm.0.000097. Epub 2015 Jun 11. PMID: 26066632.
35. Tavares D.A., Handem S., Carvalho R.J., Paulo A.C., de Lencastre H., Hinds J., Sá-Leão R. Identification of *Streptococcus pneumoniae* by a real-time PCR assay targeting SP2020. *Sci Rep*. 2019 Mar 1; 9 (1): 3285. doi: 10.1038/s41598-019-39791-1. PMID: 30824850; PMCID: PMC6397248.
36. Kukla R., Bolehovska R., Radocha J., Pliskova L., Zak P., Vrbacky F., Nekvindova J., Zemlickova H. Improved laboratory diagnostics of *Streptococcus pneumoniae* in respiratory tract samples through qPCR. *New Microbiol*. 2020 Apr; 43 (2): 70–77. Epub 2020 Apr 19. PMID: 32310299.
37. Ricketson L.J., Lidder R., Thorington R., Martin I., Vanderkooi O.G., Sadarangani M., Kellner J.D. PCR and culture analysis of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in healthy children. *Microorganisms*. 2021; 9: 2116. doi: 10.3390/microorganisms9102116.
38. Velusamy S., Tran T., Mongkolrattanothai T., Walker H., McGee L., Beall B. Expanded sequential quadruplex real-time polymerase chain reaction (PCR) for identifying pneumococcal serotypes, penicillin susceptibility, and resistance markers. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020; 97. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115037.
39. Carvalho M., Pimenta F.C., Moura I., Roundtree A., Gertz R.E., Li Z. et al. Non-pneumococcal *Mitis*-group streptococci confound detection of pneumococcal capsular serotype-specific loci in upper respiratory tract. *PeerJ*. 2013; 1: e97. doi: 10.7717/peerj.97.
40. Antonio M., Hakeem I., Sankareh K., Cheung Y.B., Adegbola R.A. Evaluation of sequential multiplex PCR for direct detection of multiple serotypes of *Streptococcus pneumoniae* from nasopharyngeal secretions. *J Med Microbiol*. 2009; 58: 296–302. doi: 10.1099/jmm.0.006031-0.
41. Никитина Е. В., Цветкова И. А., Калиногорская О. С., Гостев В. В., Беланов С. С., Мохов А. С. и соавт. Серотиповый состав *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих у детей с респираторными инфекциями, оптимизация молекулярных методов оценки. *Антибиотики и химиотер*. 2021; 66: 11–12: 18–24. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2021-66-11-12-18-24>. [Nikitina E.V., Tsvetkova I.A., Kalinogorskaya O.S., Gostev V.V., Belanov S.S., Mokhov A.S. et al. Serotype composition of *Streptococcus pneumoniae* in children with respiratory infections, optimization of molecular assessment methods. *Antibiot i Khimioter*. 2021; 66 (11–12): 18–24. doi: /10.37489/0235-2990-2021-66-11-12-18-24. (in Russian)]
42. Leung M.H., Bryson K., Freystatter K., Pichon B., Edwards G., Charalambous B.M. et al. Sequotyping: serotyping *Streptococcus pneumoniae* by a single PCR sequencing strategy. *J Clin Microbiol*. 2012; 50: 2419–2427.
43. Nagaraj G., Feroze G., Vandana G., Lingegowda R. Development of PCRSeqTyping — a novel molecular assay for typing of *Streptococcus pneumoniae*. *Pneumonia*. 2017; 9 (8). doi: 10.1186/s41479-017-0032-3.
44. Enright M.C., Spratt B.G. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology*. 1998; 144: 3049–3060.
45. Elberse K.E.M., Nunes S., Sá-Leão R., van der Heide H.G.J., Schouls L.M. Multiple-locus variable number tandem repeat analysis for *Streptococcus pneumoniae*: Comparison with PFGE and MLST. *PLoS ONE*. 2011; 6 (5): e19668. doi: 10.1371/journal.pone.0019668.
46. Миронов К. О., Гапонова И. И., Корчагин В. И., Михайлова Ю. В., Шеленков А. А., Каптелова И. и соавт. Антигенная и генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98 (5): 512–518. doi: 10.36233/0372-9311-144. [Mironov K.O., Gaponova I.I., Korchagin V.I., Mikhailova Y.V., Shelonkov A.A., Kaptelova V.V. et al. Antigenic and genetic characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with invasive and non-invasive pneumococcal infections by using high-throughput sequencing. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2021; 98 (5): 512–518. doi: 10.36233/0372-9311-144. (in Russian)]
47. Мартынова А. В., Балабанова Л. А., Чулакова О. А., Шепарёв А. А. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у пациентов пожилого возраста с внебольничными пневмониями. *Современные технологии в медицине*. 2014; 6 (3): 91–96. [Martynova A.V., Balabanova L.A., Chulakova O.A., Sheparov A.A. Molecular epidemiological monitoring of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in elderly patients with common-acquired pneumoniae. *Modern Technologies in Medicine*. 2014; 6 (3): 91–96. (in Russian)]
48. Савинова Т. А., Филимонова О. Ю., Грудина С. А., Сидоренко С. В. Генетическое разнообразие пенициллинустойчивых *Streptococcus pneumoniae*. *Журнал инфектологии*. 2009; 1(4): 66–71. doi: 10.22625/2072-6732-2009-1-4-66-71. [Savinova T.A., Filimonova O.Y., Grudinina S.A., Sidorenko S.V. Genetic diversity of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Journal Infectology*. 2009; 1 (4): 66–71. doi: 10.22625/2072-6732-2009-1-4-66-71. (in Russian)]
49. Straume D., Stamsås G.A., Håvarstein L.S. Natural transformation and genome evolution in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Genet Evol*. 2015; 33: 371–380. doi: 10.1016/j.meegid.2014.10.020.
50. Straume D., Stamsås G.A., Håvarstein L.S. Natural transformation and genome evolution in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Genet Evol*. 2015; 33: 371–380. doi: 10.1016/j.meegid.2014.10.020.
51. Wyres K.L., Lambertsen L.M., Croucher N.J., McGee L., von Gottberg A., Liñares J. et al. Pneumococcal capsular switching:

- a historical perspective. *J Infect Dis.* 2013; 207: 439–449. doi: 10.1093/infdis/jis703.
52. Beall B.W., Gertz R.E., Hultkower R.L., Whitney C.G., Moore M.R., Brueggemann A.B. Shifting genetic structure of invasive serotype 19A pneumococci in the United States. *J Infect Dis.* 2011; 203: 1360–1368. doi: 10.1093/infdis/jir052.
 53. Beall B., McEllistrem M.C., Gertz R.E., Wedel S., Boxrud D.J., Gonzalez A.L. et al. Pre- and postvaccination clonal compositions of invasive pneumococcal serotypes for isolates collected in the United States in 1999, 2001, and 2002. *J Clin Microbiol.* 2006; 44 (3): 999–1017. doi: 10.1128/JCM.44.3.999-1017.2006.
 54. Kaur R., Casey J.R., Pichichero M.E. Emerging *Streptococcus pneumoniae* strains colonizing the nasopharynx in children after 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in comparison to the 7-valent era, 2006–2015. *Pediatr Infect Dis J.* 2016; 35 (8): 901–906. doi: 10.1097/INF.0000000000001206.
 55. Миронов К.О., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Янушевич Ю.Г., Шеленков А.А., Чагарян А.Н. и соавт. Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97 (2): 113–118. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118. [Mironov K.O., Korchagin V.I., Mikhailova Y.V., Yanushevich Y.G., Shelentov A.A., Chagaryan A.N. et al. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains causing invasive infections using whole-genome sequencing. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2020; 97 (2): 113–118. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118. (in Russian)]
 56. Coffey T.J., Enright M.C., Daniels M., Morona J.K., Morona R., Hryniewicz W. et al. Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype changes among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol.* 1998; 27 (1): 73–83. doi: 10.1046/j.1365-2958.1998.00658.x.
 57. Цветкова И.А., Беланов С.С., Гостев В.В., Калиногорская О.С., Волкова М.О., Мохов А.С. и соавт. Клональная структура популяции изолятов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих в России с 1980 по 2017 гг. Антибиотики и химиотер. 2019; 64 (5–6): 22–31. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100027. [Tsvetkova I.A., Belanov S.S., Gostev V.V., Kalinogorskaya O.S., Volkova M.O., Mokhov A.S. et al. Clonality of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Russia, circulating from 1980 to 2017. *Antibiot i Khimioter.* 2019; 64 (5–6): 22–31. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100027. (in Russian)]
 58. Белошицкий Г.В., Королева И.С., Миронов К.О. Фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов пневмококков, выделенных от больных пневмококковым менингитом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2011; 13 (3): 261–266. [Beloshitskiy G.V., Korolyova I.S., Mironov K.O. Phenotypic and genotypic characteristics of pneumococci isolated from patients with pneumococcal meningitis. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya.* 2011; 13 (3): 261–266. (in Russian)]
 59. Белошицкий Г.В., Королева И.С., Королева М.А. Серотиповой пейзаж пневмококков, выделенных при пневмококковом менингите, в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2015; 14 (2): 19–25. doi: 10.31631/2073-3046-2015-14-2-19-25. [Beloshitskiy G.V., Koroleva I.S., Koroleva M.A. Landscape of serotypes pneumococcus isolate with pneumococcal meningitis in the Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2015; 14 (2): 19–25. doi: 10.31631/2073-3046-2015-14-2-19-25. (in Russian)]
 60. Фельдблюм И.В., Семериков В.В., Голоднова С.О., Николенко В.В., Захарова Ю.А., Воробьева Н.Н. Результаты серотипирования штаммов *Str. Pneumoniae*, циркулирующих на территории г. Перми. *Здоровье семьи — 21 век.* 2013; 2 (2): 194–203. [Feldblum I.V., Semerikov V.V., Golodnova S.O., Nikolenko V.V., Zakharova Yu.A., Vorobyeva N.N. Results of serotyping of *Str. Pneumoniae* strains circulating in Perm. *Zdorov'e sem'i — 21 vek.* 2013; 2 (2): 194–203. (in Russian)]
 61. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999–2009: Результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2010; 12 (4): 329–341. [Kozlov R.S., Sivaya O.V., Krechikova O.I., Ivanchik N.V., Study Group «PEHASus». 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 Russian)]
 62. Sidorenko S., Rennert W., Lobzin Y., Briko N., Kozlov R., Namazova-Baranova L. et al. Multicenter study of serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal isolates from healthy children in the Russian Federation after introduction of PCV13 into the National Vaccination Calendar. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2020; 96: 1–6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114914.
 63. Харит С., Сидоренко С., Рулева А., Перова А., Волкова М., Гостев В. и др. Распространённость пневмококковых пневмоний и отитов у детей младшего возраста (предварительные данные). Вопросы современной педиатрии. 2011; 10 (6): 103–107. [Kharit S., Sidorenko S., Ruleva A., Perova A., Volkova M., Gostev V. et al. Prevalence of pneumococcal pneumoniae and otitis in infants (provisional data). *Current Pediatrics.* 2011; 10 (6): 103–107. (in Russian)]
 64. Garcia-García S., Perez-Arguello A., Henares D., Timoneda N., Muñoz-Almagro C. Rapid identification, capsular typing and molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* by using whole genome nanopore sequencing. *BMC Microbiol.* 2020; 20: 347. doi: 10.1186/s12866-020-02032-x.

Информация об авторах

Захарова Юлия Александровна — Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. ORCID: 0000-0003-3416-0902

Акимкин Василий Геннадьевич — ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-4228-9044

Никитина Екатерина Валерьевна — ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-9737-9496

Иващенко Иван Александрович — Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. ORCID: 0000-0002-3584-9528

About the authors

Yuliya A. Zakharova — Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections «Vector» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russia. ORCID: 0000-0003-3416-0902

Vasily G. Akimkin — Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-4228-9044

Ekaterina V. Nikitina — Children's Scientific Clinical Center of Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-9737-9496

Ivan A. Ivashchenko — Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections «Vector» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russia. ORCID: 0000-0002-3584-9528

Болгарова Екатерина Викторовна — Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия. ORCID: 0000-0001-6140-2546

Александрова Екатерина Вячеславовна — ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0002-9171-2286

Скрипковская Светлана Михайловна — ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Ekaterina V. Bolgarova — Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections «Vector» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Yekaterinburg, Russia. ORCID: 0000-0001-6140-2546

Ekaterina V. Aleksandrova — Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-9171-2286

Svetlana M. Skripkovskaya — Children's Scientific Clinical Center of Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia