

УДК 616.24-002:616.94-022.7]-036.22-053.2(571.51)

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* У ДЕТЕЙ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ

Протасова И.Н.^{1,3}, Бахарева Н.В.², Перьянова О.В.^{1,3}, Елистратова Т.А.¹, Коваль М.В.⁴¹ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск² Министерство здравоохранения Красноярского края, г. Красноярск³ Российско-японский центр микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний, г. Красноярск⁴ КГБУЗ «Красноярский краевой специализированный дом ребенка № 3», г. Красноярск

РЕЗЮМЕ

Представлены данные обследования 250 детей в возрасте младше 5 лет, большинство из которых находились в детских организованных коллективах, и 215 детей школьного возраста с целью выявления носительства *Streptococcus pneumoniae* и изучения молекулярно-эпидемиологических особенностей штаммов, циркулирующих на территории г. Красноярска и Красноярского края. Данное исследование на территории региона проводится впервые и является обоснованием для выбора оптимальной стратегии вакцинопрофилактики пневмококковых заболеваний.

Идентификация *S. pneumoniae* проводилась как традиционными методами, так и с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) по наличию гена *cpsA*, определение серотипов осуществлялось с использованием мультиплексной ПЦР согласно международным рекомендациям.

Распространенность бактерионосительства среди детей младше 5 лет составила 51,6%, среди школьников – 12,1%. В возрастной группе детей младше 5 лет преобладали серотипы 23F, 19F и 6B, большинство штаммов (до 90%) принадлежали к серотипам, входящим в состав пневмококковых вакцин, разрешенных к применению в Российской Федерации, наибольшее соответствие отмечалось у 13-валентной конъюгированной вакцины. Среди детей школьного возраста ведущую роль играли 6B, 9VA, 15AF, до 60% из них относились к серотипам, входящим в состав пневмококковых вакцин.

Учитывая высокий уровень носительства пневмококков, детям в возрасте младше 5 лет, находящимся в детских организованных коллективах, а также неорганизованным детям из семей с двумя детьми и более необходимо проведение специфической профилактики пневмококковых инфекций с применением 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакцины.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Streptococcus pneumoniae*, серотипы, дети, вакцинация.

Введение

Пневмококк – основной возбудитель внебольничной пневмонии, бактериемии, менингита, среднего отита и синусита у детей младше 5 лет. Лечение этих заболеваний сопряжено со значительными затратами для семьи больного ребенка и службы здравоохранения. По данным ВОЗ, в мире среди детей в возрасте младше 5 лет ежегодно регистрируется около 14,5 млн случаев тяжелых пневмококковых заболеваний (включая пневмонию, менингит и сепсис), приводящих к летальному исходу приблизительно в 500 тыс. случаев [1, 2].

В г. Красноярске и Красноярском крае о распространенности пневмококковой инфекции косвенно можно судить по высокому уровню заболеваемости пневмониями, болезнями уха и сосцевидного отростка. Количество случаев пневмоний среди детей Красноярского края в возрасте 0–14 лет в 2010 г. составило 620,2, в 2011 г. – 597,3, в 2012 г. – 558,4 на 100 тыс. детского населения, при этом в большинстве случаев заболевание развивалось у детей первых двух лет жизни. Показатель летальности при внебольничной пневмонии в среднем по РФ составляет 6,6%, однако у пациентов первого года жизни, особенно группы риска (недоношенные дети, дети с врожденными пороками сердца, бронхо-легочной дисплазией), он

✉ Протасова Ирина Николаевна, тел.: 8-960-753-1414, 8-391-220-13-61; e-mail: ovsyanka802@gmail.com

достигает 15–30% [3, 4]. Показатели заболеваемости болезнями уха и сосцевидного отростка составили 5566 случаев в 2010 г., 5837 – в 2011 г. и 5985 – в 2012 г. на 100 тыс. детского населения Красноярского края, что превышает общероссийские показатели на 3,6; 6,7 и 9,8% соответственно [5].

Развитию вышеперечисленных заболеваний зачастую предшествует назофарингеальное носительство пневмококка, максимальная частота которого отмечается у детей в возрасте младше 5 лет. Значимым фактором риска развития пневмококковых инфекций является пребывание детей в детских организованных коллективах, где происходит быстрое распространение *S. pneumoniae* (в том числе антибиотикорезистентных штаммов) вследствие большого количества детей и тесных контактов между ними [6]. По данным D.F. Verstrheim и соавт., уровень носительства пневмококков у детей младше 5 лет, посещающих детские сады, достигает 78,4%, у детей 2–3 лет – 88,7% [7].

В настоящее время известно более 90 серотипов *S. pneumoniae*. По литературным данным, спектр серотипов, вызывающих неинвазивные пневмококковые заболевания (средний отит и синусит) у детей младше 5 лет, характеризуется значительным разнообразием; инвазивные инфекции, как правило, обусловлены типами 1, 5, 6A, 6B, 14, 19F и 23F [8]. Серотипы 6B, 9V, 14, 19A, 19F и 23F чаще других ассоциированы с лекарственной устойчивостью [9]. По данным многих авторов, частота встречаемости различных серотипов и уровень резистентности *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам могут существенно различаться в зависимости от региона [8–11].

В г. Красноярске и Красноярском крае проблема пневмококковых инфекций до настоящего времени остается неизученной, в то же время экономические потери региона на лечение острых отитов, менингитов, сепсиса пневмококковой этиологии у детей раннего возраста весьма значительны: только прямые экономические затраты на лечение пневмоний у детей 0–14 лет ежегодно составляют 10,5–11 млн рублей [4]. Исследования, направленные на выявление молекулярно-эпидемиологических особенностей *S. pneumoniae* в Красноярском крае, позволят оптимизировать стратегию вакцинопрофилактики пневмококковых инфекций, снизить показатели заболеваемости и смертности среди детей, что приведет к улучшению социально-экономической ситуации в регионе.

Цель исследования – оценить распространенность носительства *S. pneumoniae* среди детей различного возраста, проживающих в Красноярском крае, и изучить серотиповую принадлежность выделенных культур.

Материал и методы

Проведено обследование 250 невакцинированных против пневмококковой инфекции детей в возрасте младше 5 лет, из которых 180 детей находились в организованных коллективах (Красноярский краевой дом ребенка № 3, МБДОУ № 64, МБДОУ № 44, МБДОУ № 222 г. Красноярска), 70 детей являлись неорганизованными; а также 215 невакцинированных детей школьного возраста из городов и районов Красноярского края (Козульский и Емельяновский районы, города Дивногорск, Железногорск, Сосновоборск).

Материал для исследования забирался из носоглотки с помощью вискозных зонд-тампонов со средой Амиес (MEUS, Италия). Для выделения пневмококков использовали кровяной агар на основе Columbia Agar (Bio-Rad, Франция) с добавлением 5% эритроцитарной массы [12], а также Chocolate Agar Base без селективной добавки (HiMedia, Индия). Инкубация проводилась в эксикаторе при температуре 35 °С в течение 24 ч. Идентификация пневмококков осуществлялась на основании морфо-тинкториальных, культуральных и антигенных свойств (Slidex pneumo-Kit, bioMerieux, Франция) чувствительности к желчи и оптохину. Для хранения штаммов при температуре –80 °С использовали триптиказосоевый бульон (CONDA Pronadisa, Испания) с добавлением 30% глицерина.

Определение серотипа *S. pneumoniae* проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя 40 пар праймеров, рекомендованных CDC (Center for Disease Control and Prevention, США) [13].

Фрагменты *cps*-генов, имеющихся у всех капсульных штаммов *S. pneumoniae*, амплифицировали по следующему температурному профилю: 94 °С – 2 мин; 94 °С – 10 с, 58 °С – 15 с, 72 °С – 10 с, 35 циклов; 72 °С – 2 мин; 4 °С – хранение [14]. Данная реакция использовалась в качестве теста, подтверждающего принадлежность к пневмококкам.

Праймеры (39 пар), используемые для амплификации фрагментов *cps*-генов, кодирующих серогруппы/серотипы 1, 2, 3, 4, 5, 6A/6B/6C, 7F/7A, 7C/(7B/40), 8, 9L/9N, 9V/9A, 10A, 10F/(10C/33C), 11A/11D, 12F/(12A/44/46), 13, 14, 15A/15F, 15B/15C, 16F, 17F, 18A/18B/18C/18F, 19A, 19F, 20, 21, 22A/22F, 23A, 23B, 23F, 24A/24B/24F, 31, 33F/(33A/37), 34, 35A/(35C/42), 35B, 35F/47F, 38F/25F, 39F, были сгруппированы в 10 мультиплексных реакций, проводимых последовательно [14]. Амплификацию выполняли на приборе Applied Biosystems по следующему температурному профилю: 94 °С – 2 мин; 94 °С – 10 с, 54 °С – 15 с, 72 °С – 10 с, 35 циклов; 72 °С – 2 мин; 4 °С – хранение.

Продукты амплификации детектировали в 1,5%-м агарозном геле (Sigma, США) с последующей визуализацией бромистым этидием (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) при УФ-излучении ($\lambda = 310$ нм) в транс-иллюминаторе Molecular Imager Gel Doc XR System (Bio-Rad, США). Размеры ПЦР-продуктов определяли в сравнении с маркером молекулярного веса ДНК (100 bp DNA Ladder, «Евроген», Россия).

Статистическая обработка и анализ полученных результатов осуществлялись с использованием компьютерной программы Statistica 6.0 for Windows. Для проведения анализа на нормальность распределения признака использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Результаты вычислений представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего. Достоверность различий полученных результатов оценивалась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Достоверными считали различия при достигнутом уровне статистической значимости $p < 0,05$. Средняя ошибка доли рассчитывалась по формуле Г. Шварц (1978) [15].

Результаты

В группе детей младше 5 лет (средний возраст – $(2,0 \pm 1,2)$ года) *S. pneumoniae* был выделен в $(51,6 \pm 3,1)$ % случаев, из них в 46,4% – в ассоциации с микроорганизмами родов *Neisseria*, *Moraxella*, *Staphylococcus*; у 7,2% обследованных детей был выделен *Staphylococcus aureus*, у 4% – *Haemophilus influenzae b*. Уровень носительства пневмококков среди организованных детей данной группы составил $(49,6 \pm 3,7)$ %, при этом в доме ребенка бактерионосительство отмечалось в 49,4% случаев, в детских садах – в 50%. Среди неорганизованных детей данной группы носительство пневмококков выявлено в $(53,4 \pm 5,9)$ % случаев, при этом 56,9% из них были из семей с двумя и более детьми, в которых второй (третий) ребенок посещает детский сад или школу (именно они и составили 75,8% носителей).

Среди школьников распространенность бактерионосительства пневмококка была статистически значимо ниже и составила $(12,1 \pm 2,2)$ % ($p < 0,001$), при этом средний возраст обследованных составил $(11,0 \pm 1,62)$ года.

Большинство (70%) штаммов у детей в возрасте младше 5 лет принадлежали к серотипам 23F и 19F (рис. 1). До 90% штаммов относились к серотипам, входящим в состав пневмококковых вакцин, разрешенных к применению в РФ. Среди детей школьного возраста ведущую роль играли 6B и 9VA (рис. 2), при этом до 50–60% серотипов относились к серотипам, входящим в состав пневмококковых вакцин, разре-

шенных к применению в РФ. Необходимо отметить, что некоторые типы *S. pneumoniae* (6B, 9VA, 23A, 15AF) встречались у детей обеих групп, при этом большинство из них (6B, 9VA, 23A) выявлялись у школьников в несколько раз чаще. В то же время другие серотипы, в большинстве своем относящиеся к инвазивным (23F, 19F, 14, 7AF, 18), отсутствовали у детей школьного возраста. В целом спектр серотипов *S. pneumoniae* у детей в возрасте младше 5 лет был более разнообразным.

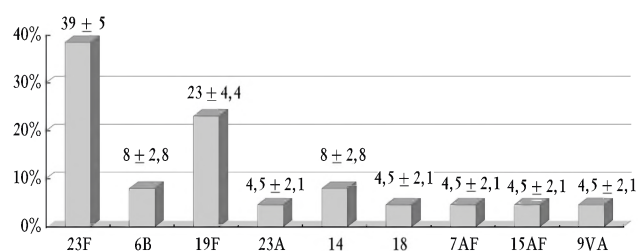


Рис. 1. Распределение серотипов исследуемых штаммов *S. pneumoniae* у детей в возрасте до 5 лет ($n = 93$) ($M \pm m$)

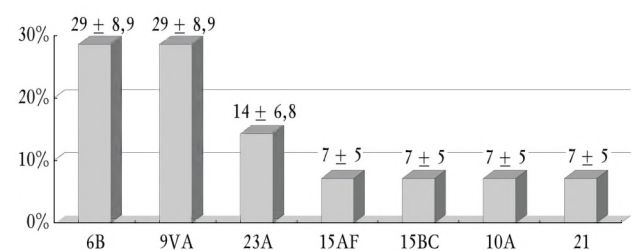


Рис. 2. Распределение серотипов исследуемых штаммов *S. pneumoniae* у детей школьного возраста ($n = 26$) ($M \pm m$)

Обсуждение

Среди детей Красноярского края в возрасте младше 5 лет, относящихся к группе риска по развитию пневмококковых заболеваний, отмечается высокий уровень носительства *S. pneumoniae*. Распространенность бактерионосительства пневмококка в когорте обследованных школьников статистически значимо ниже, что свидетельствует о снижении колонизации данным микроорганизмом детей старше 5 лет. Спектр серотипов пневмококка в группах также существенно различался. Кроме того, у детей в возрасте младше 5 лет имелись некоторые отличия процентного соотношения серотипов пневмококка от такового в других регионах Российской Федерации. Так, пневмококки 23-й серогруппы (23F + 23A) составили 43,5% от всех выделенных штаммов, в то время как в других регионах данная серогруппа выявлялась лишь в 9% случаев [16]. Преобладание серотипа 19F было не столь выраженным: 23% по нашим данным против 47% в других регионах [16].

Обращает на себя внимание большой процент носительства серотипов, способных вызывать инвазивные заболевания. Так, у детей в возрасте младше 5 лет подавляющее большинство серотипов (91,5%) относилось к «инвазивным», а процент «инвазивных» серотипов у школьников составил 65% [17]. Необходимо отметить, что дети школьного возраста не входят в группу риска по развитию пневмококковых инфекций, но наличие в данной группе серотипов пневмококка, способных вызывать инвазивные заболевания, представляет эпидемиологическую опасность для лиц из групп риска (детей младше 5 лет, пожилых, людей с иммунодефицитом).

В настоящее время специфическая профилактика признана действенным методом борьбы с пневмококковой инфекцией у детей и населения в целом за счет популяционного иммунитета. С 2014 г. вакцинация против пневмококковой инфекции включена в Национальный календарь профилактических прививок РФ. Для иммунизации детей в России используются четыре вакцины, зарегистрированные и прошедшие клинические и эпидемиологические испытания: полисахаридная 23-валентная вакцина и три полисахаридные конъюгированные вакцины: 7-, 10- и 13-валентная. Данные препараты имеют различный антигенный состав, т.е. отличаются по количеству и спектру серотипов *S. pneumoniae*. Как известно, частота встречаемости и распределение серотипов пневмококка зачастую имеют региональные особенности. В связи с этим изучение молекулярно-эпидемиологических характеристик *S. pneumoniae* является крайне важным для выбора наиболее потенциально эффективной вакцины в том или ином регионе. В г. Красноярске и Красноярском крае впервые начато серотипирование пневмококков и исследование их антибиотикорезистентности.

Согласно полученным нами данным, большинство серотипов штаммов *S. pneumoniae* относились к «вакцинальным», при этом наибольшее соответствие серотиповой принадлежности (90%) отмечалось у 13-валентной и 23-валентной пневмококковых вакцин. Известно, что последняя не рекомендуется к применению у детей младше двух лет ввиду слабого иммунного ответа на полисахаридные Т-независимые антигены. 13-валентная вакцина, содержащая капсульные полисахариды пневмококков, конъюгированные с белком-носителем CRM197, рекомендуется к применению у детей с 2-месячного возраста и обеспечивает стойкий продолжительный иммунитет против серотипов, входящих в ее состав.

Заключение

Таким образом, распространенность бактерионосительства и распределение серотипов *S. pneumoniae* име-

ют региональные отличия, зависят от возраста, а также от места проживания детей (город или село).

Выбор вакцины для иммунопрофилактики пневмококковых заболеваний во многом определяется молекулярно-эпидемиологическими особенностями популяции *S. pneumoniae*, циркулирующей в регионе. Для вакцинации детей Красноярского края может быть рекомендована 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина. Кроме того, для оптимизации вакцинопрофилактики необходим мониторинг серотиповой структуры и антибиотикорезистентности *S. pneumoniae* в Красноярском крае.

Литература

1. World Health Organization (2013) Progress in introduction of pneumococcal conjugate vaccine worldwide, 2000–2012 // Weekly Epidemiol. Rec. V. 88. P. 173–180. doi: 10.1371/journal.pone.0081539.
2. O'Brien K.L., Wolfson L.J., Watt J.P. et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates // Lancet. 2009. V. 374. P. 893–902. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61204-6.
3. Артюхов И.П., Галактионова М.Ю., Рахимова А.А. Основные тенденции состояния здоровья подростков города Красноярска // Сиб. мед. обозрение. 2012. Т. 6. С. 47–52.
4. Статистические данные Министерства здравоохранения РФ. URL: <http://www.rosminzdrav.ru/documents> (дата обращения: 05.03.2014).
5. Бахарева Н.В., Протасова И.Н., Перьянова О.В. и др. Бактерионосительство *Streptococcus pneumoniae* среди детей города Красноярска // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2012. Т. 4, № 65. С. 73–77.
6. Andrade A.L.S., Franco C.M., Lamaro-Cardoso J. et al. Non-typeable *Streptococcus pneumoniae* carriage isolates genetically similar to invasive and carriage isolates expressing capsular type 14 in Brazilian infants // J. of Infect. 2010. V. 61. P. 314–322. doi: 10.1016/j.jinf.2010.07.003.
7. Verstrheim D.F., Hoiby E.A., Aaberge I.S., Caugant D.A. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains colonizing children attending day-care centers in Norway // J. Clin. Microbiol. 2008. V. 46. P. 2508–2518. doi: 10.1128/CVI.00435-09.
8. Johnson H.L., Deloria-Knoll M., Levine O.S. et al. Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project // PLoS Medicine. 2010. V. 7, № 10. e1000348. doi: 10.1371/journal.pmed.1000348.
9. Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae* // Clin. Microbiol. Infect. 2009. V. 15 (Suppl 3). P. 7–11.
10. Савинова Т.А., Филимонова О.Ю., Грудина С.А., Сидоренко С.В. Генетическое разнообразие пенициллиноустойчивых *Streptococcus pneumoniae* // Журн. инфек. 2009. Т. 1, № 4. С. 66–71.
11. Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Labham A. et al. Mechanisms of macrolide resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolates from Russia // Antimicrob. Agents Chemother. 2008. V. 52, № 6. P. 2260–2262.
12. Крещикова О.И., Козлов Р.С., Богданович Т.М. и др. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Streptococcus pneumoniae* (методические рекомендации) // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2000. Т. 2, № 1. С. 88–98.

13. CDC Streptococcus Laboratory. URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocols.htm> (дата обращения: 10.03.2014).
14. Савинова Т.А. Генетическое разнообразие и молекулярные основы резистентности *Streptococcus pneumoniae* к β-лактамам антибиотикам: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2011.
15. Шварц Г. Выборочный метод. Руководство по применению статистических методов оценивания / пер. с нем. Я.Ш. Паппэ; под ред. И.Г. Венецкого и В.М. Ивановой. М.: Статистика, 1978. 213 с.
16. Козлов Р.С., Чагарян А.Н., Козлова Л.В., Муравьев А.А. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации // Клинико-микробиол. антимикроб. химиотер. 2011. Т. 13, № 2. С. 177–187.
17. Рудакова А.В., Баранов А.А., Лобзин Ю.В. и др. Фармакоэкономические аспекты вакцинации детей 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакциной в Российской Федерации // Вопр. соврем. педиатрии. 2014. Т. 13, № 1. С. 35–41.

Поступила в редакцию 21.03.2014 г.

Утверждена к печати 09.10.2014 г.

Протасова Ирина Николаевна (✉) – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

Бахарева Наталья Васильевна – консультант-эпидемиолог Министерства здравоохранения Красноярского края (г. Красноярск).

Перьянова Ольга Владимировна – канд. биол. наук, доцент, заведующая кафедрой микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

Елистратова Татьяна Анатольевна – студентка 5-го курса лечебного факультета КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск).

Коваль Марина Викторовна – зам. главного врача КГБУЗ «ККСДР № 3» (г. Красноярск).

✉ Протасова Ирина Николаевна, тел.: 8-960-753-1414, 8-391-220-1361; e-mail: ovsyanka802@gmail.com

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL FEATURES IN CHILDREN OF KRASNOYARSK REGION

Protasova I.N.^{1,3}, Bakhareva N.V.², Peryanova O.V.^{1,3}, Yelistratova T.A.¹, Koval M.V.⁴

¹ Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation

² Ministry of Public Health of Krasnoyarsk Region, Krasnoyarsk, Russian Federation

³ Russia-Japan Center of Microbiology, Epidemiology and Infectious Diseases, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁴ Specialized Krasnoyarsk State Orphanage no. 3, Krasnoyarsk, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the research was to estimate the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in 250 children aged under 5 years and 215 school-aged children in Krasnoyarsk Region, and also investigate molecular epidemiological features of the strains circulating in Krasnoyarsk city and in Krasnoyarsk Region. This study is carried out for the first time in the region and provides a foundation for the choice of optimal vaccination strategy of pneumococcal disease.

S. pneumoniae identification was carried out using culture method as well as PCR (revealing of *cpsA* gene), serotypes were determined with PCR (according to CDC protocol).

The prevalence of *S. pneumoniae* carriage in under-five children was 51,6% with predominated pneumococcal serotypes 23F, 19F and 6B; most of these strains (up to 90%) belonged to those included in pneumococcal vaccines which are permitted for use in Russian Federation; the greatest conformity was observed in 13-valent conjugated vaccine. In school-aged children the *S. pneumoniae* prevalence was 12,1% with predominated pneumococcal serotypes 6B, 9VA and 15AF, most of these strains (up to 60%) belonged to those included in approved pneumococcal vaccines.

Considering high level of *S. pneumoniae* carriage in children under 5 years in organized groups and unorganized children from families with two or more children it is necessary to carry out vaccine prevention of pneumococcal diseases with of 13-valent pneumococcal conjugated vaccine application.

KEY WORDS: *Streptococcus pneumoniae*, serotypes, children, vaccination.

Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 5, pp. 67–72

References

- World Health Organization (2013) Progress in introduction of pneumococcal conjugate vaccine worldwide, 2000–2012. *Weekly Epidemiol. Rec.*, vol. 88, pp. 173–180. doi: 10.1371/journal.pone.0081539.
- O'Brien K.L., Wolfson L.J., Watt J.P. et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*, 2009, vol. 374, pp. 893–902. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61204-6.
- Artyukhov I.P., Galaktionova M.Yu., Rakhimova A.L. Osnovnye tendencii sostoyaniya zdorov'ya podrostkov goroda Krasnoyarska [The main trends of adolescent health of the city of Krasnoyarsk]. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie – Siberian Medical Review*, 2012, vol. 6, pp. 47–52.
- Statisticheskie dannye Ministerstva zdavoobraneniya RF [Statistical data of the Ministry of health of the Russian Federation] URL: <http://www.rosminzdrav.ru/documents> (дата обращения: 05.03.2014).
- Bakhareva N.V., Protasova I.N., Peryanova O.V. et al. Bakterionsitel'stvo *Streptococcus pneumoniae* sredi detei goroda Krasnoyarska [Hosting *Streptococcus pneumoniae* among children in the city of Krasnoyarsk]. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika – Epidemiology and Vaccination*, 2012, vol. 4, no. 65, pp. 73–77.
- Andrade A.L.S., Franco C.M., Lamaro-Cardoso J. et al. Non-typeable *Streptococcus pneumoniae* carriage isolates genetically similar to invasive and carriage isolates expressing capsular type 14 in Brazilian infants. *J. of Infect.*, 2010, vol. 61, pp. 314–322. doi: 10.1016/j.jinf.2010.07.003.
- Verstrheim D.F., Høiby E.A., Aaberge I.S., Caugant D.A. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains colonizing children attending day-care centers in Norway. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, vol. 46, pp. 2508–2518. doi: 10.1128/CVI.00435-09.
- Johnson H.L., Deloria-Knoll M., Levine O.S. et al. Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLoS Medicine*, 2010, vol. 7, no. 10. e1000348. doi: 10.1371/journal.pmed.1000348.
- Reinert R.R. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2009, vol. 15 (Suppl 3), pp. 7–11.
- Savinova T.A., Filimonova O.Yu., Grudinina S.A., Sidorenko S.V. Geneticheskoe raznoobrazie penicillinostoichivyyh *Streptococcus pneumoniae* [Genetic diversity of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae*]. *Zhurn. Infect.*, 2009, vol. 1, no. 4, pp. 66–71.
- Reinert R.R., Filimonova O.Y., Al-Lahham A. et al. Mechanisms of macrolide resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolates from Russia. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, vol. 52, no. 6, pp. 2260–2262.
- Krechikova O.I., Kozlov R.S., Bogdanovich T.M. et al. Vydelenie, identifikaciya i opredelenie chuvstvitel'nosti k antibiotikam *Streptococcus pneumoniae* [Isolation, identification and definition of sensitivity to antibiotics of *Streptococcus pneumoniae*]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya – Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, vol. 2, no. 1, pp. 88–98.
- CDC Streptococcus Laboratory. URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocols.htm> (accessed 10.03.2014)
- Savinova T.A. Geneticheskoe raznoobrazie i molekulyarnye osnovy rezistentnosti *Streptococcus pneumoniae* k β -laktamnym antibiotikam [Genetic diversity and molecular basis of resistance of *Streptococcus pneumoniae* to β -lactam antibiotics]. Author. Dis. cand. biol. Sci. Moscow, 2011.
- Shvarc G. Vyborochnyj metod. Rukovodstvo po primeneniju statisticheskikh metodov ocenivaniya. Per. s nem. Ja.Sh. Papp. Pod red. I.G. Veneckogo i V.M. Ivanovoi. Moscow, Statistika Publ., 1978. 213 p.)
- Kozlov R.S., Chagarjan A.N., Kozlova L.V., Murav'ev A.A. Serologicheskaja harakteristika i chuvstvitel'nost' k antibiotikam pnevmokokkov, vydelennyh u detej v vozraste do 5 let v otdel'nyh regionah Rossijskoj Federacii [Serological characterization and antibiotic sensitivity of pneumococci isolated from children under the age of 5 years in some regions of the Russian Federation]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya – Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, vol. 13, no 2, pp. 177–187.
- Rudakova A.V., Baranov A.A., Lobzin Ju.V. i dr. Farmakoeconomicheskie aspekty vakcinacii detej 13-valentnoj pnevmokokkovoj konjugirovannoj vakcinoj v Rossijskoj Federacii [Pharmacoeconomic aspects of vaccination of children 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in the Russian Federation]. *Voprosy sovremennoi pediatrii – Current Pediatrics*, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 35–41.

Protasova Irina N. (✉), Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk; Russia-Japan Center of Microbiology, Epidemiology and Infectious Diseases, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Bakhareva Natalia V., Ministry of Public Health of Krasnoyarsk Region, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Peryanova Olga V., Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk; Russia-Japan Center of Microbiology, Epidemiology and Infectious Diseases, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Yelistratova Tatiana A., Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Koval Mrina V., Specialized Krasnoyarsk State Orphanage no. 3, Krasnoyarsk, Russian Federation.

✉ Protasova Irina N., Ph.: +7-960-753-1414, +7-391-220-1361; e-mail: ovsyanka802@gmail.com