

Научная статья
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-144>



Антигенная и генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования

Миронов К.О.^{1✉}, Гапонова И.И.¹, Корчагин В.И.¹, Михайлова Ю.В.¹, Шеленков А.А.¹, Каптелова В.В.¹, Чагарян А.Н.², Иванчик Н.В.², Козлов Р.С.²

¹Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия;

²НИИ антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета, Смоленск, Россия

Аннотация

Цель работы заключалась в характеристике и сопоставлении данных об антигенных и генетических свойствах полученных с помощью высокопроизводительного секвенирования штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными формами пневмококковой инфекции (ПИ).

Материалы и методы. Исследовано 158 штаммов *S. pneumoniae*, выделенных при проведении различных этапов многоцентрового исследования «ПеГАС» в 2015–2020 гг. При анализе данных использовалась информация о полногеномных последовательностях 46 штаммов, выделенных ранее в том же исследовании. Для определения серотипов применены методики ПЦР в режиме реального времени и высокопроизводительное секвенирование (платформа «Illumina»). При обработке данных использовались программы «SeroBA», «PneumoCaT» и программные возможности интернет-ресурса PubMLST.org.

Результаты и обсуждение. Определены серотипы всех штаммов, включённых в исследование. Найден ряд несовпадений серотипов внутри серогруппы 6 и один дискордантный результат при анализе полногеномных последовательностей двумя программами. Предлагаемые ПЦР-подходы позволяют охарактеризовать серотип у 87% возбудителей инвазивных и 69% неинвазивных форм ПИ. Доля штаммов с серотипами, входящими в состав PCV13, составляет 59 и 37%, в состав PPV23 — 78 и 53% для штаммов, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными ПИ соответственно. Анализ данных не позволяет выявить преобладающий сиквенс-тип (всего найден 81 сиквенс-тип) или определить клональные комплексы, за исключением штаммов серотипа 3, что согласуется с полученными ранее данными об отсутствии выраженной клональной структуры *S. pneumoniae*, ассоциированных с пневмококковыми менингитами, на территории России.

Заключение. Получены данные, позволяющие определить распределение циркулирующих серотипов и генетические характеристики штаммов, выделенных от больных ПИ, что даёт возможность оценить эффективность существующих поливалентных вакцин и предоставляет информацию для коррекции основанных на ПЦР способов серотипирования.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, инвазивные пневмококковые инфекции, неинвазивные пневмококковые инфекции, высокопроизводительное секвенирование, серотипирование, ПЦР в режиме реального времени, мультилокусное секвенирование-типирование

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Смоленского государственного медицинского университета (протокол № 213 от 11.10.2018).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Шеленков А.А., Каптелова В.В., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Антигенная и генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2021;98(5):512–518.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-144>

Antigenic and genetic characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with invasive and non-invasive pneumococcal infections by using high-throughput sequencing

Konstantin O. Mironov¹✉, Irina I. Gaponova¹, Vitaly I. Korchagin¹, Yulia V. Mikhailova¹, Andrey A. Shelenkov¹, Valeriya V. Kaptelova¹, Aida N. Chagaryan², Natali V. Ivanchik², Roman S. Kozlov²

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;

²Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Abstract

The **objective** of this study was to characterize and compare antigenic and genetic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with invasive and non-invasive pneumococcal infections (PIs) by using the data of *high-throughput sequencing*.

Materials and methods. A total of 158 *S. pneumoniae* strains were studied. All of them were isolated during different stages of the *PEHASus* multicenter study performed in 2015–2020. The data analysis was based on the information about whole-genome sequences of 46 strains isolated during the above study. Real-time PCR methods and high-throughput sequencing (the Illumina platform) were used for identification of serotypes. The SeroBA, PneumoCaT software and PubMLST.org website resources were used in the data processing.

Results and discussion. The serotypes of all the studied strains were identified. A number of discrepancies among serotypes in serogroup 6 and one discordant result were revealed by the analysis of whole-genome sequences using 2 programs. The PCR methods were effectively used to characterize serotypes in 87% and 69% of the pathogens of invasive and non-invasive PIs, respectively. The serotypes contained in PCV13 accounted for 59% and 37%, while PPV23 serotypes accounted for 78% and 53% of the strains isolated from patients with invasive and non-invasive PIs, respectively. The data analysis was unable to identify either the dominant sequence type (a total of 81 sequence types have been identified) or clonal complexes, except for serotype 3 strains, thus demonstrating consistency with the data from previous studies suggesting the absence of a well-represented clonal structure of *S. pneumoniae* associated with pneumococcal meningitis in Russia.

Conclusion. The obtained data made it possible to identify the distribution of the circulating serotypes and genetic characteristics of the strains isolated from PI patients, thus being instrumental for assessment of the effectiveness of the existing polyvalent vaccines and providing information for improvement of the PCR-based methods of serotyping.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, invasive pneumococcal infections, non-invasive pneumococcal infections, high-throughput sequencing, serotyping, real-time PCR, multilocus sequence typing

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Smolensk State Medical University (No. 213, October 11, 2018).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Mironov K.O., Gaponova I.I., Korchagin V.I., Mikhailova Y.V., Shelenkov A.A., Kaptelova V.V., Chagaryan A.N., Ivanchik N.V., Kozlov R.S. Antigenic and genetic characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with invasive and non-invasive pneumococcal infections by using high-throughput sequencing. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(5): 512–518.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-144>

Введение

Streptococcus pneumoniae является одним из распространённых патогенов человека, способных вызывать инфекции различной локализации. Клинически принято выделять инвазивные и неинвазивные пневмококковые инфекции (ПИ) [1]. К инвазивным формам относят инфекции, при которых возбудитель выделен из стерильных в норме локусов (например, кровь или спинномозговая жидкость). К неинвазивным формам относят в том числе небактериемиче-

ские пневмонии, при которых возбудитель может быть выделен из отделяемого нижних дыхательных путей. В этой связи далее в статье инвазивными и неинвазивными штаммами будут обозначены культуры микроорганизмов, выделенные от больных соответствующими формами ПИ.

Важным элементом эпидемиологического надзора за ПИ является микробиологический мониторинг, включающий антигенную и генетическую характеристики возбудителей ПИ, а также данные

о чувствительности к антибиотикам. Антигенная характеристика возбудителей заключается в определении серотипов, что позволяет оценить эффективность существующих поливалентных вакцин. В России широкое применение получили 13-валентная конъюгированная пневмококковая вакцина (PCV13, «Превенар 13») и 23-валентная полисахаридная вакцина (PPV23, «Пневмовакс 23»). Определение спектра серотипов возбудителей ПИ позволяет планировать иммунопрофилактические мероприятия и оценивать их эффективность в группах лиц, вовлечённых в эпидемический процесс.

Если чувствительность к антибиотикам оценивается, согласно рекомендациям EUCAST [2, 3], с использованием стандартных микробиологических методов и, в связи с многообразием механизмов резистентности [1], она не всегда может быть исследована с использованием молекулярно-биологических методов, то эффективность использования молекулярно-биологических методов для определения серогрупп и серотипов (ключевой элемент антигенной характеристики *S. pneumoniae*) была неоднократно показана в отечественных и зарубежных исследованиях [4–7]. Определение генетических свойств штаммов *S. pneumoniae* с использованием мультилокусного секвенирования-типирования (МЛСТ) или других подходов, основанных на анализе полногеномных данных, позволяет описать клональную структуру микроорганизмов, вовлечённых в эпидемический процесс, оценить рекомбинационный потенциал бактериальной популяции и охарактеризовать эволюционные процессы, приводящие к возникновению новых потенциально вирулентных или резистентных к антибиотикам штаммов [1, 8–10].

Антигенная и генетическая характеристики могут быть определены с использованием молекулярно-биологических методов, таких как ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РПВ) и секвенирование. Применение высокопроизводительного секвенирования позволяет получить исчерпывающую характеристику микроорганизмов на основании анализа их полногеномных сиквенсов: последовательностей генов *crs*-локуса для определения серотипов и данных о первичных последовательностях локусов «основного генома» (*core genome*), анализ которых обладает максимальной дискриминирующей способностью для определения генетических взаимоотношений штаммов и определения клональной структуры бактериальной популяции. Несмотря на очевидные преимущества ПЦР-РПВ для определения серотипов, эффективность её применения не всегда очевидна, что обусловлено постоянной адаптацией возбудителей под давлением популяционного иммунитета, в том числе обусловленного иммунопрофилактикой с использованием поливалентных вакцин. К настоящему времени

известно не менее 100 серотипов *S. pneumoniae*, из которых значительная часть ассоциирована с инвазивными ПИ [1, 11], что диктует необходимость изучения штаммов, не типизируемых с помощью стандартных серологических или основанных на ПЦР методик, с целью оптимизации существующих лабораторных подходов, например, за счёт использования дополнительных серотип-специфических мишеней, и даёт информацию об эпидемиологических особенностях циркулирующих возбудителей для эффективного планирования и контроля эффективности программ по вакцинации.

В связи с этим **цель** данного исследования заключалась в характеристике с помощью высокопроизводительного секвенирования штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными формами ПИ, сравнительном анализе их антигенных и генетических свойств в контексте проводимого микробиологического мониторинга.

Материалы и методы

Проведено исследование 22 инвазивных штаммов (выделены из крови или спинномозговой жидкости) и 90 неинвазивных штаммов (выделены из мокроты больных внебольничными пневмониями пневмококковой этиологии) *S. pneumoniae*. Все штаммы были получены при проведении различных этапов многоцентрового исследования «ПеГАС» в 2015–2020 гг. [2]. Большинство штаммов, охарактеризованных в данном исследовании, и инвазивные штаммы, также полученные при проведении исследования «ПеГАС» и охарактеризованные ранее [5], были выделены в 2019 ($n = 58$) и 2020 гг. ($n = 47$).

Условия транспортировки и хранения, микробиологические методы, методы видовой идентификации, методика выделения ДНК, процедура полногеномного секвенирования и сборки генома описаны ранее [2, 5]. Все штаммы были дополнительно исследованы с использованием методики ПЦР-РПВ для определения 16 серотипов [4] и с помощью дополнительно разработанной методики для определения серотипов 12F, 15BC, 22FA и 8. Реакционные смеси для ПЦР-РПВ содержат набор из 4 серотип-специфических олигонуклеотидов, соответствующих группам, представленным в **табл. 1**. Для определения серотипов на основе данных полногеномного секвенирования использовали программу «SeroBA» [6] и «PneumoCaT» [7].

Депонирование нуклеотидных последовательностей, обработка результатов секвенирования с обозначением аллелей и сиквенс-типов, а также анализ данных МЛСТ с помощью программных модулей BURST и Genome Comparator проводили с использованием интернет-ресурса PubMLST.org¹ [9].

¹ PubMLST. Streptococcus pneumoniae MLST Databases.
URL: <https://pubmlst.org/organisms/streptococcus-pneumoniae>

Таблица 1. Группы серотипов, выявленные у инвазивных и неинвазивных штаммов

Table 1. Serotype groups identified in invasive and non-invasive strains

Группы серотипов Serotype groups		Инвазивные штаммы Invasive strains (n = 68)	Неинвазивные штаммы Non-invasive strains (n = 90)	χ^2 (p-value)*
Методики ПЦР-РРВ Methods RT-PCR	3, 6AB, 9VA, 19F	26 (38%)	28 (31%)	0,59 (0,44)
	1, 4, 14, 23F	11 (16%)	9 (10%)	0,84 (0,36)
	9NL, 11AD, 15AF, 18	6 (9%)	11 (12%)	0,18 (0,67)
	2, 5, 7AF, 19A	3 (4%)	0	0,08**
	8, 12F, 15BC, 22FA	13 (19%)	14 (16%)	0,14 (0,71)
	Всего / Total	59 (87%)	62 (69%)	5,94 (0,015)
Входящие в вакцины Included in vaccines	PCV13	40 (59%)	33 (37%)	6,78 (0,009)
	PPSV23	53 (78%)	48 (53%)	9,13 (0,0025)

Примечание. * χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса; **точный тест Фишера, p-value.
Note. * χ^2 of Pearson with Yates correction; **Fisher's exact test, p-value.

На момент окончания исследования база данных со-держала информацию о более чем 37 тыс. геномов *S. pneumoniae*, включая 288 полногеномных последовательностей российских изолятов, охарактеризованных преимущественно в работах [5, 10]. Поскольку ранее нами была исследована выборка из 46 инвазивных штаммов, также выделенных в рамках исследования «ПеГАС», при сопоставлении результатов антигенной и генетической характеристик инвазивных и неинвазивных штаммов использована объединённая выборка инвазивных штаммов (n = 68), включающая штаммы, описанные нами ранее [5].

Результаты

Полногеномные нуклеотидные последовательности изученных штаммов, данные о серотипах и чувствительности к антибиотикам (для большинства штаммов), а также информация об источниках штаммов внесены в базу PubMLST, идентификационные номера (id): инвазивные штаммы — 73010, 73011, 73013–73015, 73017–73033, неинвазивные штаммы — 142542, 142543, 142546–142569, 142572–142574, 142578, 142579, 142581, 142583–142604, 142606–142610, 142612–142625, 142627–142643. Для всех штаммов определены аллельные профили и соответствующие им сиквенс-типы, при этом часть аллелей и сиквенс-типов были описаны впервые.

В результате анализа полногеномных данных с использованием двух программ [6, 7] удалось определить серотиповую принадлежность всех изученных штаммов. При этом у неинвазивных штаммов наблюдались несовпадения при определении серотипов, принадлежащих серогруппам 6 (определялись серотипы В или С, А или В и Д или С), у 5 штаммов, 15 (В или С) — у 3 штаммов и 35 (А или С) — у 1 штамма, однократно был получен дискордантный результат: у изолята id142633 серотип определён неоднозначным образом (35А или 42).

Несоответствий между определением серотипов *in silico* и при использовании методик ПЦР-РРВ для определения серотипов не выявлено.

Обсуждение

Антигенная характеристика

Всего у инвазивных и неинвазивных штаммов было найдено 28 и 33 варианта серотипов соответственно (неповторяющихся — 42). Наиболее часто (более чем у 5%) у инвазивных штаммов были найдены серотипы 3 (18%), 19F (9%) и 23F (7%), у неинвазивных — 3 (11%), 19F (10%), 15С (8%) и 11А (8%), 23F (7%) и 23А (6%). В табл. 1 представлены данные о частотах серотипов, разделённых по группам, для обеих выборок штаммов. Группам серотипов соответствуют серотип-специфические мишени, детектируемые методиками ПЦР-РРВ, и капсульные антигены, входящие в состав поливалентных вакцин PCV13 и PPSV23. Как следует из табл. 1, доля штаммов, серотип которых может быть определён с помощью методики ПЦР-РРВ для 16 серотипов [4], включающей все серотипы вакцины PCV13, составляет 67% для инвазивных штаммов и 53% для неинвазивных. Эти значения соответствуют доле определённых серотипов (65%), полученных при исследовании возбудителей пневмококкового менингита, циркулирующих на территории Москвы в сопоставимый промежуток времени (2016–2019 гг.) [12], и ниже (79%) циркулирующих ранее (2007–2010 гг.) [4]. Уменьшение доли серотипов, входящих в состав вакцины PCV13, может объясняться как изменяющимся спектром антигенного разнообразия *S. pneumoniae*, связанным с вакцинацией, так и территориальным разнообразием возбудителей, включённых в данное исследование и изученных при проведении различных этапов исследования «ПеГАС» [2]. Детекция дополнительных серотип-специфических мишеней 12F, 15BC, 22FA и 8 позволяет повысить долю

определяемых серотипов до 87 и 69%, при этом наблюдается статистически значимое различие между выборками. Разработанная в 2014 г. методика ПЦР-PPV и предложенный алгоритм её использования [4] не оптимальны как для инвазивных, так и для неинвазивных штаммов в охарактеризованной выборке, собранной на территории нескольких регионов России и циркулирующей преимущественно в 2019–2020 гг. Оптимальный способ определения серотипов методом ПЦР-PPV должен включать дополнительные серотип-специфические мишени 12F, 15BC, 22FA и 8, при этом детекция серотипов 2, 5, 7AF и 19A может не проводиться.

Доля серотипов, входящих в вакцины PCV13 и PPSV23, для исследованных выборок штаммов различна, при этом доля входящих в вакцины серотипов статистически значимо выше в выборке инвазивных штаммов для обеих вакцин.

Генетическая характеристика

У изученных штаммов в совокупности с результатами исследования [5] был выявлен 81 сиквенс-тип, из которых наиболее часто встречались ST-180 (6%), ST-505 (5%), ST-1025, ST-1262 и ST-6202 (по 4%), ST-81 и ST-239 (по 3%). В обеих выборках штаммов максимальное количество сиквенс-типов было выявлено однократно. Из 81 сиквенс-типа 18 (22%) встречались в обеих выборках штаммов, 27 (33%) сиквенс-типов — только у инвазивных штаммов и 36 (44%) — только у неинвазивных. Часть различий в распределении и частотах найденных сиквенс-типов представлена в **табл. 2**.

Несмотря на различия в составе и количестве найденных сиквенс-типов у исследованных инвазивных и неинвазивных штаммов, индекс разнообразия по Симпсону, рассчитанный согласно [13], не отличается и составляет 98,3 и 98,5% соответственно. С одной стороны, полученные высокие значения индекса разнообразия не позволяют говорить о выраженной клональной структуре исследованных возбудителей,

с другой — проведённый анализ данных МЛСТ методом BURST определяет две группы генетически близких штаммов с центральными сиквенс-типами ST-311 и ST-505 (при условии объединения в группу штаммов, имеющих не более 2 несовпадений в аллельном профиле). Группа ccST-311 объединяет 9 штаммов с сиквенс-типами ST-36, ST-42, ST-15248, ST-16095 и ST-16358, все они принадлежат серогруппе 23 (серотипы А или F). Группа ccST-505 объединяет 20 штаммов серотипа 3 с сиквенс-типами ST-180, ST-2049, ST-15250 и ST-15251, при этом инвазивные штаммы имеют сиквенс-тип ST-180, а неинвазивные — ST-505 (табл. 2). Группе ccST-505 соответствует обозначенная в исследовании [3] клональная группа CC180 — один из наиболее распространённых в России клональных комплексов *S. pneumoniae*, выделенных в 1980–2017 гг.

При сопоставлении найденных сиквенс-типов с сиквенс-типами 81 российского штамма *S. pneumoniae* (39 сиквенс-типов), выделенных от больных менингитом в 2011–2015 гг. и охарактеризованных в исследовании [10], найдено 12 совпадений, при этом различий в количестве совпадений между выборками инвазивных и неинвазивных штаммов не наблюдалось. Проведённый анализ по «основному геному» (cgMLST), включающий расчёт генетического расстояния по 1367 локусам, позволяет обозначить обособленные группы штаммов определённых серотипов (для наиболее распространённых серотипов: 3, 19F, 11A, 15BC и 9V), в то же время некоторые группы содержат штаммы нескольких серогрупп (например, 10A и 6C). Сопоставление результатов двух исследований и проведённая генетическая характеристика подтверждают сформулированные ранее положения об отсутствии выраженной клональной структуры *S. pneumoniae*, ассоциированных с инвазивными ПИ, на территории России [5].

Использование полногеномного секвенирования в молекулярно-биологическом мониторинге

Таблица 2. Сиквенс-типы инвазивных и неинвазивных штаммов, выявленные в 2 и более случаях

Table 2. Sequence types of invasive and non-invasive strains identified in 2 or more cases

Количество штаммов с совпадающим сиквенс-типом Number of strains with matching sequence-type	Инвазивные штаммы, 45 сиквенс-типов Invasive strains, 45 sequence-types (n = 68)	Неинвазивные штаммы, 54 сиквенс-типа Non-invasive strains, 54 sequence-types (n = 90)
6	180	—
5	—	81, 505
4	6202	1262
3	239, 505, 1025	62, 150, 143, 393, 423, 1025 , 1012, 9659, 11900
2	15, 225, 236, 311, 433 , 1262, 2361, 2991, 3544	42, 239, 433 , 2754, 6202 , 9248, 12493
Однократно Once	31 сиквенс-тип 31 sequence types	35 сиквенс-типов 35 sequence types

Примечание. *Жирным шрифтом выделены сиквенс-типы, найденные в обеих выборках.

Note. *Sequence types found in both samples are in bold.

возбудителей ПИ позволяет своевременно получать достоверные данные об изменениях в структуре циркулирующих серотипов *S. pneumoniae*, что может быть эффективно использовано при планировании и оценке эффективности иммунопрофилактических мероприятий. Основанная на полногеномных данных генетическая характеристика является эффективным инструментом внутривидовой классификации возбудителей, проводимой с целью расширенного микробиологического мониторинга как элемента эпидемиологического надзора за ПИ. Накопление и анализ полногеномных данных в перспективе позволит расширить представления об основных генетических вариациях, ассоциированных со способностью отдельных представителей вида *S. pneumoniae* вызывать инвазивные формы ПИ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Козлов Р.С. *Пневмококки: уроки прошлого — взгляд в будущее*. Смоленск; 2010.
2. Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В., Козлов Р.С., Дехнич А.В., Кречикова О.И. и др. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПЕГАС 2014–2017». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(3): 230–7. <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.3.230-237>
3. Цветкова И.А., Беланов С.С., Гостев В.В., Калиногорская О.С., Волкова М.О., Мохов А.С. и др. Клональная структура популяции изолятов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих в России с 1980 по 2017 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2019; 64(5-6): 22–31. <https://doi.org/10.24411/0235-2990-2019-10027>
4. Миронов К.О., Платонов А.Е., Дунаева Е.А., Кусева В.И., Шипулин Г.А. Методика ПЦР в режиме реального времени для определения серотипов *Streptococcus pneumoniae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 91(1): 41–8.
5. Миронов К.О., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Янушевич Ю.Г., Шеленков А.А., Чагарян А.Н. и др. Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных инвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(2): 113–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118>
6. Epping L., van Tonder A.J., Gladstone R.A., Bentley S.D., Page A.J., Keane J.A. The Global Pneumococcal Sequencing Consortium. SeroBA: rapid high-throughput serotyping of *Streptococcus pneumoniae* from whole genome sequence data. *Microb. Genom.* 2018; 4(7): e000186. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000186>
7. Kapatai G., Sheppard C.L., Al-Shahib A., Litt D.J., Underwood A.P., Harrison T.G., et al. Whole genome sequencing of *Streptococcus pneumoniae*: development, evaluation and verification of targets for serogroup and serotype prediction using an automated pipeline. *PeerJ*. 2016; 4: e2477. <https://doi.org/10.7717/peerj.2477>
8. 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(11): 3049–60. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-11-3049>
9. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.

- org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018; 3: 124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
10. Gladstone R.A., Lo S.W., Lees J.A., Croucher N.J., van Tonder A.J., Corander J., et al. International genomic definition of pneumococcal lineages, to contextualise disease, antibiotic resistance and vaccine impact. *EBioMedicine*. 2019; 43: 338–46. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.04.021>
 11. 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(3): e00937-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.00937-20>
 12. Матосова С.В., Миронов К.О., Шипулина О.Ю., Нагибина М.В., Рыжов Г.Э., Венгеров Ю.Я. Характеристика серотипов *Streptococcus pneumoniae*, вызвавших гнойный бактериальный менингит на территории Москвы в период с 2016 по 2019 г. В кн.: *Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020»*. М.; 2020.
 13. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26(11): 2465–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988>

REFERENCES

1. Kozlov R.S. *Pneumococci: Lessons from the Past — a Look into the Future [Pnevmokokki: uroki proshlogo – vzglyad v budushchee]*. Smolensk; 2010. (in Russian)
2. Ivanchik N.V., Chagaryan A.N., Sukhorukova M.V., Kozlov R.S., Dekhnic A.V., Krechikova O.I., et al. Antimicrobial resistance of clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Russia: the results of multicenter epidemiological study «PEHASus 2014–2017». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2019; 21(3): 230–7. <https://doi.org/10.36488/cmasc.2019.3.230-237> (in Russian)
3. 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. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2019; 64(5-6): 22–31. <https://doi.org/10.24411/0235-2990-2019-10027> (in Russian)
4. Mironov K.O., Platonov A.E., Dunaeva E.A., Kuseva V.I., Shipulin G.A. Real-time PCR procedure for determination of *Streptococcus pneumoniae* serotypes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014; 91(1): 41–8. (in Russian)
5. Mironov K.O., Korchagin V.I., Mikhaylova Yu.V., Yanushevich Yu.G., Shelencov A.A., Chagaryan A.N., et al. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains causing invasive infections using whole-genome sequencing. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(2): 113–8. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118> (in Russian)
6. Epping L., van Tonder A.J., Gladstone R.A., Bentley S.D., Page A.J., Keane J.A. The Global Pneumococcal Sequencing Consortium. SeroBA: rapid high-throughput serotyping of *Streptococcus pneumoniae* from whole genome sequence data. *Microb. Genom.* 2018; 4(7): e000186. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000186>
7. Kapatai G., Sheppard C.L., Al-Shahib A., Litt D.J., Underwood A.P., Harrison T.G., et al. Whole genome sequencing of *Streptococcus pneumoniae*: development, evaluation and verification of targets for serogroup and serotype prediction using an automated pipeline. *PeerJ*. 2016; 4: e2477. <https://doi.org/10.7717/peerj.2477>
8. 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(11): 3049–60. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-11-3049>

9. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018; 3: 124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
10. Gladstone R.A., Lo S.W., Lees J.A., Croucher N.J., van Tonder A.J., Corander J., et al. International genomic definition of pneumococcal lineages, to contextualise disease, antibiotic resistance and vaccine impact. *EBioMedicine.* 2019; 43: 338–46. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.04.021>
11. 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(3): e00937-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.00937-20>
12. Matosova S.V., Mironov K.O., Shipulina O.Yu., Nagibina M.V., Ryzhov G.E., Vengerov Yu.Ya. Serotype characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates caused meningitis in Moscow during 2016–2019 years. In: *Collection of Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation «Molecular Diagnostics and Biosafety-2020» [Sbornik materialov Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Molekulyarnaya diagnostika i biobezopasnost' – 2020»]*. Moscow; 2020. (in Russian)
13. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26(11): 2465–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988>

Информация об авторах

Миронов Константин Олегович[✉] — д.м.н., рук. научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, mironov@pcr.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4481-2249>

Гапонова Ирина Игоревна — лаборант-исследователь научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8207-9215>

Корчагин Виталий Иванович — к.б.н., н.с. научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2264-6294>

Михайлова Юлия Владимировна — к.б.н., зав. лаб. молекулярных механизмов антибиотикорезистентности ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5646-538X>

Шеленков Андрей Александрович — к.ф.-м.н., с.н.с. лаб. молекулярных механизмов антибиотикорезистентности ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7409-077X>

Каптелова Валерия Владимировна — м.н.с. научной группы геномики и постгеномных технологий ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0952-0830>

Чагарян Аида Нуримановна — к.б.н., н.с. лаб. молекулярной диагностики НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9195-8764>

Иванчик Натали Владимировна — к.м.н., н.с. лаб. антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9392-0732>

Козлов Роман Сергеевич — д.м.н., профессор, директор НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8728-1113>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 18.03.2021;
принята к публикации 11.06.2021;
опубликована 04.10.2021

Information about the authors

Konstantin O. Mironov[✉] — D. Sci. (Med.), Head, Group for the development of new methods for detecting genetic polymorphisms, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, mironov@pcr.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8207-9215>

Irina I. Gaponova — research laboratory assistant, Scientific group for the development of new methods for detecting genetic polymorphisms, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8207-9215>

Vitaly I. Korchagin — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Scientific group for the development of new methods for detecting genetic polymorphisms, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2264-6294>

Yulia V. Mikhailova — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular mechanisms of antibiotic resistance, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5646-538X>

Andrey A. Shelonkov — Cand. Sci. (Physics and Mathematics), senior researcher, Laboratory of molecular mechanisms of antibiotic resistance, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7409-077X>

Valeriya V. Kaptelova — junior researcher, Scientific group of genomics and postgenomic technologies, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0952-0830>

Aida N. Chagaryan — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of molecular diagnostics, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9195-8764>

Natali V. Ivanchik — Cand. Sci. (Med.), researcher, Laboratory of antibiotic resistance, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9392-0732>

Roman S. Kozlov — D. Sci. (Med.), Professor, Director, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8728-1113>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 18.03.2021;
accepted for publication 11.06.2021;
published 04.10.2021